

Márcia Luiza
dos Santos Beserra Pessoa

Resumo da Obra

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) é uma palmeira tropical da América do Sul, com frutos ricos em bioativos de potencial tecnológico. A polpa contém ácidos graxos como oleico e palmítico, enquanto o epicarpo é notável por compostos bioativos com aplicações biotecnológicas. A pesquisa, dividida em cinco capítulos, abrangeu desde a obtenção dos coprodutos até a avaliação de sua toxicidade em peixe-zebra, destacando as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Os resultados mostraram que os coprodutos possuem fitosteróis, tocoferóis e terpenos, com bioformulações demonstrando atividades hipolipemiantes e cardioprotetoras. As evidências reforçam o grande potencial dos coprodutos do buriti para novas aplicações, destacando sua importância ecológica e econômica.

Tese de Doutorado

Aplicações Biotecnológicas do Epicarpo do Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.)

2024

Teresina, Piauí. 2024.



Ministério da Educação e Cultura – MEC
Universidade Federal do Piauí – UFPI
Pró-Reitoria de Ensino e Pós-Graduação – PRPG
Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - PPGAN

TESE DE DOUTORADO

**APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DO EPICARPO DO BURITI (*MAURITIA
FLEXUOSA L.F.*)**

Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa

TERESINA
2024

MÁRCIA LUIZA DOS SANTOS BESERRA PESSOA

**APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DO EPICARPO DO BURITI
(*MAURITIA FLEXUOSA L.f.*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Orientadora: Prof^a Dr^a Stella Regina Arcanjo Medeiros

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Joilane Alves Pereira-Freire

Área de concentração: Alimentos e Nutrição

Linha de Pesquisa: Alimentos Funcionais e Desenvolvimento de Produtos

TERESINA
2024

**Universidade Federal do
PiauíBiblioteca Setorial
do CCS
Divisão de Representação da Informação**

P475a

Pessoa, Márcia Luiza dos Santos Beserra.

Aplicações biotecnológicas do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa L.f.*) / Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa. – –
Teresina, 2023.
223 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Programa
de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, 2024.

“Orientadora: Prof^a Dr^a Stella Regina Arcanjo Medeiros”

1. Buriti. 2. Fração insaponificável. 3. Fitoesteróis. 4.
Bioformulações. 5. Atividade hipoglicemiante. I. Medeiros, Stella
Regina Arcanjo. II. Título.

CDD 664

MÁRCIA LUIZA DOS SANTOS BESERRA PESSOA

**APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DO EPICARPO DO BURITI
(MAURITIA FLEXUOSA L.f.)**

APROVADO EM: 19/08/2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **STELLA REGINA ARCANJO MEDEIROS**
Data: 23/09/2024 16:33:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Profª Drª Stella Regina Arcanjo Medeiros -
UFPI/PPGAN
Orientadora – Presidente**

Documento assinado digitalmente
 **JOILANE ALVES PEREIRA FREIRE**
Data: 27/09/2024 10:24:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Profª Drª Joilane Alves Pereira-Freire - UFPI/PPGAN
Co-orientadora**

Documento assinado digitalmente
 **IDILA MARIA DA SILVA ARAUJO**
Data: 29/09/2024 06:35:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Profª Drª Ídila Maria da Silva Araújo - EMBRAPA1º
Examinador**

Documento assinado digitalmente
 **BRUNO BEZERRA DA SILVA**
Data: 30/09/2024 15:47:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Bruno Bezerra da Silva - UECE
2º Examinador**

Documento assinado digitalmente
 **MARCILIA PINHEIRO DA COSTA**
Data: 01/10/2024 10:12:16-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Profª Drª Marcilia Pinheiro da Costa - UFPI/PPGCF
3º Examinador**

Documento assinado digitalmente
 **MARIA CHRISTINA SANCHES MURATORI**
Data: 01/10/2024 11:42:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Profª Drª Maria Christina Sanches Muratori -
UFPI/PPGAN
4º Examinador**

DEDICATÓRIA

“Dedico aos meus pais, que sempre acreditaram em mim e me apoiaram incondicionalmente em todas as etapas da minha jornada.
À meu marido e filhos, cujo amor e paciência me sustentaram durante todos os desafios deste projeto.”

AGRADECIMENTOS

"Você não sabe o quanto eu caminhei, pra chegar até aqui..." A caminhada foi longa e árdua, mas cheia de aprendizado e crescimento. Esta tese representa não apenas anos de estudo e pesquisa, mas também o apoio incondicional de muitas pessoas especiais. Agradeço a Deus pela força, amparo e orientação em todos os momentos.

Aos meus pais, por acreditarem e confiarem tanto em mim e me incentivarem a seguir meus sonhos. Os conselhos, amor e apoio foram fundamentais nessa caminhada, amo muito vocês! À minha família, por seu amor incondicional e apoio inabalável. Vocês são a base de tudo que conquistei e a razão pela qual pude chegar até aqui. Agradeço de forma especial ao meu marido Alexandro José Pessoa, que muitas vezes foi pai e mãe para os nossos filhos, absorvendo a sua rotina e a minha quando muitas vezes tive que viajar e ficar longe por vários dias. Sua luta incansável e diária para manter a rotina normal da nossa casa e dos nossos filhos, com muita paciência e resiliência foi fundamental, obrigada meu amor, por todo apoio e incentivo, principalmente quando muitas vezes pensei em desistir, você é um presente de Deus pra mim.

Aos meus filhos, Sophia Beserra Pessoa e Lorenzo Beserra Pessoa, gostaria de dedicar um agradecimento especial. Vocês são a luz da minha vida e a razão pela qual eu luto todos os dias. Mesmo pequenos, vocês me ensinaram o verdadeiro significado de amor, paciência e perseverança. Seus sorrisos, abraços e momentos de brincadeira me deram forças para continuar, mesmo nos dias mais desafiadores. Cada momento que passei longe de vocês, foi pensando em proporcionar um futuro melhor para nós. Agradeço pela compreensão e pelo amor incondicional que vocês me dão. Esta conquista também é de vocês. Eu amo vocês mais do que palavras podem expressar."

Aos meus irmãos, especialmente Sérgio Ricardo e Adriana Patrícia, que sempre me incentivaram e apoiaram, além de me acolherem em suas casas em Teresina durante todos esses anos de doutorado. Vocês ouviram minhas lamentações, compartilharam meu cansaço e também celebraram comigo as novas descobertas da pesquisa. Muito obrigada por tudo, amo vocês!

Quero expressar minha profunda gratidão à minha querida orientadora, professora Dr^a Stella Regina Arcanjo Medeiros, que no momento em que eu mais precisei, neste doutorado, apareceu e me deu a mão, jamais esquecerei esse gesto de bondade e generosidade, você realmente é um anjo que surgiu na minha vida, meu muito obrigada! Sua orientação não foi apenas uma bússola para minha pesquisa, mas também uma fonte constante de inspiração e motivação. Desde o início, você acreditou no meu potencial e me encorajou a ultrapassar meus próprios limites. Sua paciência, sabedoria e dedicação foram fundamentais para a realização deste trabalho. Cada reunião, cada conselho e cada palavra de apoio foram essenciais para o desenvolvimento desta tese. Sua paixão pela ciência e pelo ensino é contagiante, e tenho a sorte de ter aprendido com alguém tão extraordinário. Obrigada por me guiar com tanto cuidado e por sempre encontrar tempo para me apoiar e orientar, mesmo em meio a seus muitos compromissos.

Agradeço também à minha co-orientadora, professora Dr^a Joilane Alves Pereira-Freire, pela sábia orientação e competência que foram essenciais para esta conquista. Agradeço por todas as vezes em que me trouxe à realidade, ajudando-me a manter o foco e a perspectiva correta. Suas críticas construtivas e conselhos práticos foram fundamentais para aprimorar a qualidade deste trabalho. Seu comprometimento e profissionalismo serviram de exemplo e inspiração para mim. Sou imensamente grata por sua co-orientação direta e assertiva, que me proporcionou um crescimento significativo tanto acadêmico quanto pessoal. Obrigada por acreditar no meu potencial e por me ajudar a transformar desafios em oportunidades de aprendizado. Esta conquista também é fruto do seu empenho e dedicação.

Agradeço ao professor Dr. Joaquim Soares da Costa Júnior pelas suas valiosas orientações, principalmente no início desta pesquisa, pelo espaço concedido em seu Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais e pela colaboração de sua orientanda Maria das Dores Oliveira. Ao professor Dr. Sidney Gonçalo de Lima pelas orientações na pesquisa, pela realização das análises no Laboratório de Geoquímica (LAGO) da UFPI e pela inestimável colaboração do seu orientando Andrenilton Ferreira Silva. À professora Dr^a Maria Izabel Florindo Guedes, por ter me dado a oportunidade de aprender muito no Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular (LBBM) e de conceder a disponibilidade de sua orientanda Ana Paula Apolinário da Silva que foi uma grande professora e orientadora nos dias que passei em Fortaleza. Sua paciência em dividir conhecimento, disposição e generosidade me inspiraram e incentivaram muito. Ao professor Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira, à professora Dr^a Maria do Carmo de Carvalho e Martins, à professora Dr^a Mariana Moraes (IFPI), ao professor Francisco Figueiredo, pelas valiosas contribuições e análises. À minha orientanda Deigiane de Lima Rocha por me acompanhar nos estudos em Fortaleza e por colaborar de forma genuína, carinhosa e com muita destreza em vários momentos dessa jornada.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), em que parte desta pesquisa foi desenvolvida, à Universidade Estadual do Ceará (UECE) e Embrapa - Meio Norte pelas parcerias e por fornecer um ambiente de aprendizado e pesquisa de alta qualidade.

Aos meus amigos e colegas, que compartilharam comigo os desafios e as vitórias desta jornada. A amizade e apoio de vocês foram fundamentais para manter a motivação. Aos participantes do estudo, por sua disposição e colaboração, e aos técnicos e funcionários do laboratório, cujo suporte técnico foi imprescindível. A todos os professores e mentores que cruzaram meu caminho, por suas lições e conselhos valiosos, que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal. A todos que, de alguma forma, contribuíram para que eu chegasse até aqui, afinal esta conquista é fruto de muitas mãos e corações que se uniram ao longo desta jornada. A todos vocês, meu sincero e profundo agradecimento.

PESSOA, Márcia Luiza dos Santos Beserra. **Aplicações Biotecnológicas do Epicarpo do Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.).** 2024. 240f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina/PI

RESUMO

Introdução: O buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), uma palmeira nativa das regiões tropicais da América do Sul, possui grande importância ecológica e econômica. O fruto é rico em substâncias bioativas com alto potencial tecnológico e funcional. A polpa contém ácidos oleico, palmítico, linoléico, araquidônico, palmitoleico e esteárico, com destaque para o óleo extraído, rico em ácidos graxos oleico, palmitoleico e tocoferóis. O epicarpo, a camada externa do fruto, atrai pesquisadores devido ao alto conteúdo de compostos bioativos com diversas aplicações biotecnológicas. Estudos têm investigado suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e nutritivas, visando desenvolver novos produtos que possam beneficiar a saúde e o bem-estar das pessoas. **Objetivo:** Investigar a constituição química, o potencial dos compostos bioativos e as aplicações biotecnológicas dos coprodutos do epicarpo do buriti. **Metodologia:** A pesquisa foi estruturada em cinco etapas e capítulos, no Capítulo 1 foi realizado o processo de obtenção dos coprodutos do epicarpo. No capítulo 2 foi realizada a caracterização e quantificação dos compostos presentes nos coprodutos por CG-EM, no capítulo 3 avaliou-se o efeito dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das dislipidemias por meio de evidências experimentais e clínicas, no capítulo 4 foi realizado a obtenção de bioformulações contendo os coprodutos do epicarpo do buriti e por fim no capítulo 5 realizou-se a aplicação experimental em peixe-zebra para avaliar toxicidade e parâmetros bioquímicos após indução de hiperglicemia. E a avaliação da capacidade antioxidante e citotoxicidade *in vitro* dos coprodutos. **Resultados:** Os produtos desta tese encontram-se apresentados em cinco capítulos. O capítulo 1 descreve uma Patente relacionada ao processo de obtenção dos coprodutos do epicarpo, por meio de processos de maceração, saponificação e metilação, foram obtidos um extrato oleoso e uma fração apolar. No capítulo 2 obteve-se um apanhado de dados oriundos da caracterização e quantificação dos compostos presentes nos coprodutos do epicarpo da *Mauritia flexuosa* por CG-EM. O extrato contém ácidos graxos monoinsaturados e saturados, fitosteróis e tocoferóis e a fração apolar é rica em fitoesteróis, tocoferóis, terpenos e terpenóides. No capítulo 3 traz uma revisão integrativa sobre o efeito dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das dislipidemias, no capítulo 4 foi descrito uma patente relacionada à obtenção de bioformulações contendo os coprodutos e por fim no capítulo 5 obteve-se dados, por meio de um estudo experimental com peixe-zebra para avaliar toxicidade e parâmetros bioquímicos após indução de hiperglicemia. E a avaliação da capacidade antioxidante e citotoxicidade *in vitro* dos coprodutos. Ambos os coprodutos foram analisados quanto à capacidade antioxidante e toxicidade *in vivo*, definindo as melhores concentrações para bioformulações. As bioformulações, testadas em peixe-zebra, destacaram-se por suas atividades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, cardioprotetoras e quimiopreventivas. **Conclusão:** A pesquisa destacou o grande potencial tecnológico e funcional dos coprodutos extraídos do

epicarpo do buriti. Em cinco capítulos, a investigação revelou descobertas significativas sobre a constituição química e as aplicações biotecnológicas dos compostos bioativos do epicarpo, como ácidos graxos, fitosteróis, tocoferóis, terpenos e terpenóides. Estudos experimentais e clínicos demonstraram os benefícios dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção de dislipidemias, e as bioformulações desenvolvidas mostraram-se promissoras, com atividades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, cardioprotetoras e quimiopreventivas. A aplicação em peixe-zebra confirmou a segurança e eficácia dos coprodutos, indicando um grande potencial para futuras aplicações biotecnológicas e desenvolvimento de novos produtos, e reforçando a importância ecológica e econômica do buriti.

Palavras-chave: Buriti, fração insaponificável, fitoesteróis, bioformulações, atividade hipoglicemiante.

ABSTRACT

Introduction: The buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), a palm native to the tropical regions of South America, holds significant ecological and economic importance. The fruit is rich in bioactive substances with high technological and functional potential. The pulp contains oleic, palmitic, linoleic, arachidonic, palmitoleic, and stearic acids, with the extracted oil being particularly rich in oleic, palmitoleic acids, and tocopherols. The epicarp, the outer layer of the fruit, attracts researchers due to its high content of bioactive compounds with various biotechnological applications. Studies have investigated its antioxidant, anti-inflammatory, and nutritional properties, aiming to develop new products that can benefit people's health and well-being. **Objective:** To investigate the chemical constitution, the potential of bioactive compounds, and the biotechnological applications of the buriti epicarp coproducts. **Methodology:** The research was structured in five stages and chapters. Chapter 1 focused on the process of obtaining the epicarp coproducts. Chapter 2 involved the characterization and quantification of the compounds present in the coproducts by GC-MS. Chapter 3 evaluated the effect of phytosterols and phytostanols in preventing dyslipidemias through experimental and clinical evidence. Chapter 4 described the development of bioformulations containing the buriti epicarp coproducts. Finally, Chapter 5 involved experimental application in zebrafish to evaluate toxicity and biochemical parameters after hyperglycemia induction, and the *in vitro* evaluation of antioxidant capacity and cytotoxicity of the coproducts. **Results:** The thesis is presented in five chapters. Chapter 1 describes a patent related to the process of obtaining the epicarp coproducts through maceration, saponification, and methylation processes, resulting in an oily extract and an apolar fraction. Chapter 2 provides data from the characterization and quantification of the compounds present in the *Mauritia flexuosa* epicarp coproducts by GC-MS. The

extract contains monounsaturated and saturated fatty acids, phytosterols, and tocopherols, while the apolar fraction is rich in phytosterols, tocopherols, terpenes, and terpenoids. Chapter 3 presents an integrative review on the effect of phytosterols and phytostanols in preventing dyslipidemias. Chapter 4 describes a patent related to the development of bioformulations containing the coproducts. Finally, Chapter 5 provides data from an experimental study with zebrafish to evaluate toxicity and biochemical parameters after hyperglycemia induction, and the in vitro evaluation of antioxidant capacity and cytotoxicity of the coproducts. Both coproducts were analyzed for their antioxidant capacity and in vivo toxicity, defining the best concentrations for bioformulations. The bioformulations tested in zebrafish stood out for their antioxidant, hypolipidemic, hypoglycemic, cardioprotective, and chemopreventive activities.

Conclusion: The research highlighted the great technological and functional potential of the coproducts extracted from the buriti epicarp. In five chapters, the investigation revealed significant findings about the chemical constitution and biotechnological applications of the bioactive compounds in the epicarp, such as fatty acids, phytosterols, tocopherols, terpenes, and terpenoids. Experimental and clinical studies demonstrated the benefits of phytosterols and phytostanols in preventing dyslipidemias, and the developed bioformulations proved to be promising, with antioxidant, hypolipidemic, hypoglycemic, cardioprotective, and chemopreventive activities. The application in zebrafish confirmed the safety and efficacy of the coproducts, indicating a great potential for future biotechnological applications and the development of new products, reinforcing the ecological and economic importance of buriti.

Keywords: Buriti, unsaponifiable fraction, phytosterols, bioformulations, hypoglycemic activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1

Figura 1: Figura 1. Resumo gráfico da obtenção da fração insaponificável do epicarpo do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>).....	81
Figura 2: Cromatograma de Íons Totais (TIC), com destaque para o majoritário, β Sitosterol (18).....	82
Figura 3: Cromatograma de Íons Monitorados (MIC) m/z 213, característicos de fitosteróis e m/z 218, característico de alguns terpenos.....	83
Figura 4: Curva de calibração com o colesterol como padrão de síntese.....	84
Figura 5: Viabilidade de células de carcinoma de colon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos tratados por 72 h com a fração insaponificável do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>). Média $\pm$ E.P.M.. *Test T de Student ($p < 0,05$).....	85

Capítulo 2

Figura 1: Cromatograma do fluido duodenal da digestão do extrato hexânico.....	99
Figura 2: Cromatograma do fluido colônico da digestão do extrato hexânico.....	100
Figura 3: Perfil cromatográfico, mostrando os principais componentes presentes no extrato hexânico bruto de <i>Mauritia flexuosa</i> (Buriti). ni = não identificado.....	101
Figura 4: Cromatograma de Íons Totais (TIC) da fração insaponificável.....	103
Figura 5: Cromatograma de Íons Monitorados (MIC) da fração insaponificável.....	104
Figura 6: Espectro de Infravermelho no extrato hexânico (a) e na fração insaponificável (b).....	109
Figura 7: Percentual de inibição de radicais DPPH no extrato hexânico e na fração insaponificável.....	110
Figura 8: Percentual de inibição de radicais ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável.....	111

Capítulo 3

Figura 1: Fluxograma da seleção dos estudos, adaptado do PRISMA*. Picos, Piauí, Brasil, 2024.....	140
---	-----

Capítulo 4

Figura 1: Processo de obtenção da Bioformulação: (A): 1 - Extrato Hexânico; 2 - Fração Insaponificável do epicarpo do buriti, (B) Agitação em temperatura de 50°C em banho-maria com agitação, (C) Bioformulações: 1 - OHE-BE; 2 - OUF-BE.....	190
Figura 2: Efeito do tratamento com bioformulação na glicemia e na frutossamina (glicação de proteínas) do peixe-zebra.....	191
Figura 3: Efeito do tratamento com a bioformulação nos níveis de EROs no cérebro e no fígado do peixe-zebra.....	192

Figura 4: Teste de Aceitabilidade (Escala Hedônica) de bioformulações contendo fração insaponificável de buriti e do azeite de oliva puro.....	193
Figura 5: Escala do Ideal para a cor amarela e o sabor adocicado em bioformulações e no azeite puro.....	194
Figura 6: Intenção de Compra para as bioformulações contendo fração insaponificável e para o azeite.....	195

Capítulo 5

Figura 1: Viabilidade de células de carcinoma de cólon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos tratados por 72 h com extrato hexânico.....	200
Figura 2: Viabilidade de células de carcinoma de cólon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos tratados por 72 h com a fração insaponificável do buriti.....	210
Figura 3: Efeito da indução da hiperglicemia, na glicose sérica e na frutossamina.....	213
Figura 4: Efeito do tratamento com bioformulação na glicemia e na frutossamina (glicação de proteínas) do peixe-zebra.....	214
Figura 5: Efeito da indução na produção de EROs no cérebro e fígado.....	219
Figura 6: Efeito do tratamento com a bioformulação nos níveis de EROs no cérebro e no fígado.....	220

LISTA DE QUADROS

Capítulo 1

Quadro 1: Identificação, quantificação e similaridade dos principais compostos via CG-EM na fração insaponificável do epicarpo do buri..... 60

Capítulo 2

Quadro 1: Resultados das pesquisas realizadas nas bases de dados selecionadas..... 141

Quadro 2: Estudos selecionados conforme pergunta norteadora sobre as evidências experimentais e clínicas da ação dos fitoesteróis e fitoestanóis nas dislipidemias..... 142

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Concentrações de padrão de Colesterol (Sigma-Aldrich, 98%) diluído em hexano, utilizadas para construção da curva de calibração.....	60
Tabela 2. Conteúdo de fenóis totais e de flavonoides da fração insaponificável do epicarpo do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>).....	61
Tabela 3. Percentual de inibição de radicais DPPH e ABTS pela Fração Insaponificável do epicarpo do buriti.....	62
Tabela 4. Percentual de inibição do crescimento celular da fração insaponificável do buriti avaliado em concentração única em linhagens de carcinoma de cólon, sarcoma e fibroblasto murinos após 72h de exposição.....	63

Capítulo 2

Tabela 1: Composição mineral no extrato hexânico do epicarpo do buriti em relação às recomendações dietéticas de referência para homens e mulheres entre 25-50 anos, respectivamente e o percentual de adequação alcançado.....	98
Tabela 2: Composição química do extrato hexânico do epicarpo do buriti analisado por CG-EM.....	102
Tabela 3: Compostos químicos identificados e quantificados na fração insaponificável do epicarpo do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>).....	106
Tabela 4: Compostos predominantes na fração insaponificável do epicarpo do buriti.....	108

Capítulo 4

Tabela 1: Percentual de inibição de radicais DPPH e ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável.....	158
Tabela 2: Média e percentual de redução de glicose e frutossamina com os tratamentos.....	160
Tabela 3: Efeito do tratamento com a bioformulação no perfil lipídico.....	161

Capítulo 5

Tabela 1: Percentuais de inibição do crescimento celular do extrato hexânico.....	209
Tabela 2: Percentuais de inibição do crescimento celular da fração insaponificável.....	211
Tabela 3: Percentual de inibição de radicais DPPH e ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável.....	212
Tabela 4: Efeitos da indução da hiperglicemia no perfil lipídico.....	216
Tabela 5: Efeito do tratamento com a bioformulação no perfil lipídico.....	217

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) acid

AGEs - Advanced glycation end products

AI - Adequate Intake

CBA - Biologically Active Compounds

C57BL/6 - Laboratory mouse strain

CEUA - Animal Ethics Committee

CG-MS - Gas Chromatography-Mass Spectrometry

CT - Total Cholesterol

DAC - Coronary Artery Disease

DCHF-DA - Dichlorofluorescein

DP - Desvio-padrão

DM2 - Diabetes Mellitus Type 2

DPPH - 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

DRI - Dietary Reference Intake

EFSA - European Food Safety Authority

EH - Hexanic Extract

EPM - Standard Error of the Mean

EROS - Reactive Oxygen Species

FDA - Food and Drug Administration

FeSO₄ - Iron Sulfate

FI - Unsaponifiable Fraction

FTIR - Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GPx - Glutathione Peroxidase

HDL - High-Density Lipoprotein

HOMA-IR - Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance

HT-29 - Colon Carcinoma Cell Line

IC₅₀ - Inhibitory Concentration 50%

IKK β /NF-KB - IKB Kinase Beta/Nuclear Factor Kappa B

IL-1 β - Interleukin-1beta

IL-6 - Interleukin-6

INPI - National Institute of Industrial Property

IOM - Institute of Medicine

IR - Insulin Receptors

IRS-1 - Insulin Signaling Molecules

LDL - Low-Density Lipoprotein

m/z - mass-to-charge

MeHg – Methylmercury

MIC - Ion Monitoring Chromatogram

MUFA - Monounsaturated Fatty Acids

NINTEC - Technology and Innovation Transfer Center

OHE-BE - Olive Oil with Hexanic Extract

OMS - World Health Organization

OUF-BE - Olive Oil with Unsaponifiable Fraction

PDBB - Partially Defatted Buriti Bran

PUFA - Polyunsaturated Fatty Acids

RDA - Recommended Dietary Allowance

SAMA - Ammonium Molybdate Acid

SD - Standard Deviation

SGF - Simulated Gastric Fluids

SIF - Simulated Intestinal Fluids

SSF - Simulated Salivary Fluids

SIT - β -sitosterol

SOD - Superoxide Dismutase

TIC - Total Ion Chromatogram

TGL - Triglycerides

TNF- α - Tumor Necrosis Factor Alpha

UFPI - Federal University of Piauí

VLDL - Very Low-Density Lipoprotein

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral	22
2.2 Objetivos específicos.....	22
3 REFERENCIAL TEÓRICO	23
3.1 Buriti.....	23
3.1.1 Composição Química.....	24
3.1.2 Aplicações Biológicas.....	25
3.2 Coprodutos.....	28
3.2.1 Potenciais aplicações tecnológicas do buriti.....	28
4 RESULTADOS	33
CAPÍTULO 01	33
PATENTE 01: Processo de obtenção da fração insaponificável do epicarpo do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>) para aplicações biotecnológicas.	33
CAPÍTULO 02	70
ARTIGO 01: Caracterização química e potencial antioxidante do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.	70
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HEXÂNICO E DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DE <i>Mauritia</i> <i>flexuosa</i> L.f.....	71
RESUMO	71
1 INTRODUÇÃO	75
2 METODOLOGIA.....	76
2.1 Obtenção, extração e rendimento de coprodutos do epicarpo.....	76
2.2 Análise mineral no extrato hexânico.....	76
2.3 Bioacessibilidade no extrato hexânico do epicarpo de buriti.....	77
2.3.1 Simulação da digestão <i>in vitro</i>	77
2.3.2 Determinação dos compostos bioativos nos fluidos intestinais (duodenal e colônico). ..	77
2.4 Perfil cromatográfico do extrato hexânico do epicarpo dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> (buriti).....	77
2.5 Identificação e quantificação dos compostos bioativos da fração insaponificável do epicarpo do buriti	77
2.6 Análise por Infravermelho no extrato hexânico e na fração insaponificável	78
2.7 Potencial antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável.....	78
3 Resultados e Discussão.....	78
3.1 Obtenção, extração e rendimento de coprodutos do epicarpo	78
3.2 Análise mineral no extrato hexânico	79
3.3 Bioacessibilidade <i>in vitro</i> de compostos bioativos dos fluidos intestinais do extrato hexânico	80

3.4 Perfil cromatográfico do extrato hexânico do epicarpo dos frutos de <i>Mauritia flexuosa</i> (buriti)	81
3.5 Identificação e quantificação dos compostos bioativos da fração insaponificável do epicarpo do buriti	84
3.6 Análise por Infravermelho no extrato hexânico e na fração insaponificável	89
3.7 Potencial antioxidante do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti.	89
4 Conclusão	91
APENDICE 1 - Estruturas Químicas dos Compostos Identificados	93
REFERÊNCIAS	95
CAPÍTULO 03	108
Artigo 02: Evidências experimentais e clínicas do efeito dos fitoesteróis e fitoesteróis na prevenção das dislipidemias	108
RESUMO	110
ABSTRACT	111
INTRODUÇÃO	112
MATERIAL E MÉTODOS	113
RESULTADOS E DISCUSSÃO	113
CONCLUSÃO	118
ANEXOS	120
REFERÊNCIAS	125
CAPÍTULO 04	129
PATENTE 02: Bioformulações contendo coprodutos do epicarpo da <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.	129
CAPÍTULO 05	179
ARTIGO 03: Bioformulações do Epicarpo de <i>Mauritia flexuosa</i> L.f. (Buriti) melhoram parâmetros séricos, glicação de proteínas e estresse oxidativo tecidual em modelo de hiperglicemia crônica	179
Resumo	180
Abstract	182
Keywords: Unsaponifiable fraction, bioformulation, hyperglycemia, <i>Mauritia flexuosa</i>	183
1 Introdução	184
2 Metodologia	185
2.1 Obtenção do extrato hexânico e da fração insaponificável	185
2.2 Citotoxicidade <i>in vitro</i> do extrato hexânico e da fração insaponificável em células tumorais e normais.	185
2.3 Potencial antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável	186
2.4 Delineamento das bioformulações do epicarpo do buriti	186
2.5 Ensaios <i>in vivo</i>	186
2.5.1 Aspectos éticos	186
2.5.2 Animais	187
2.5.3 Teste de toxicidade aguda por 96 horas	187

2.5.4 Indução e avaliação da hiperglicemia crônica	187
2.5.5 Coleta e Preparação de Sangue.....	187
2.5.6 Determinação dos parâmetros bioquímicos séricos.....	188
2.5.7 Determinação dos níveis de proteína glicada (frutosamina)	188
2.5.8 Níveis de espécies reativas de oxigênio nos tecidos cerebral e hepático	188
2.6 Análise estatística	188
3 Resultados e Discussão.....	188
3.1 Potencial citotóxico do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti ..	188
3.2 Potencial antioxidante do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti.	191
3.3 Toxicidade aguda do extrato hexânico e da fração insaponificável em modelo <i>Danio rerio</i> .	193
3.4 Efeito da indução de hiperglicemia crônica na glicemia e na glicação de proteínas (frutosamina) nos olhos do peixe-zebra.....	193
3.5 Efeito do Tratamento com bioformulação na hiperglicemia e na glicação de proteínas (frutosamina) nos olhos do peixe-zebra.....	194
3.6 Efeito da hiperglicemia crônica no perfil lipídico do peixe-zebra.....	196
3.7 Efeito do tratamento no perfil lipídico do peixe-zebra	196
3.8 Efeito da indução da hiperglicemia crônica na produção de EROs nos tecidos hepáticos e cerebral do peixe-zebra.....	198
3.9 Efeito do tratamento na produção de EROS nos tecidos hepáticos e cerebral do peixe-zebra	199
4 Conclusão	201
REFERÊNCIAS	202
CONCLUSÕES	206
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	207
REFERÊNCIAS	208
 ANEXOS.....	 223

1 INTRODUÇÃO

O Brasil desempenha um papel relevante no contexto global como um dos maiores produtores de frutas, e essa cadeia produtiva se tornou um dos segmentos econômicos mais significativos do agronegócio brasileiro, com uma produção estimada de 59 milhões de toneladas em 2023 (EMBRAPA, 2023). De acordo com dados do IBGE, o Brasil produziu aproximadamente 422 toneladas de buriti em 2022, sendo 137 toneladas originárias da região Nordeste (IBGE, 2022). Devido ao crescimento contínuo dessa atividade e sua relevância econômica, há uma preocupação com a produção de uma quantidade imensa de resíduos, supondo-se que possam representar mais de 40% do volume total de frutas processadas (Zuin et al., 2020). Esses resíduos, em geral, são compostos por uma mistura de sementes, cascas e bagaço, cuja aplicação mais comum tem sido a produção de fertilizantes, ração animal ou o próprio descarte. Entretanto, pesquisas recentes têm demonstrado que a grande maioria dessas matérias-primas são ricas nutricionalmente e apresentam altos níveis de compostos bioativos importantes para a saúde humana (Morais et al., 2022, Nanda et al., 2021).

As cadeias produtivas que integram a agroindústria de frutas registram os mais altos volumes de perdas dentre todos os setores, o que cancela o apelo atual em torno da transformação dos resíduos de origem vegetal em coprodutos de valor agregado. A mudança de olhar sobre essas questões requer a compreensão de que o destino adequado dos resíduos deve ser canalizado para a geração de coprodutos com aplicação de forma benéfica e lucrativa na alimentação humana (Banerjee et al., 2018; Sharma et al., 2022; Tiwari et al., 2022; Zhu et al., 2023).

Coprodutos resultantes do processo de beneficiamento de frutos, normalmente constituem importante fonte de compostos bioativos, muitas vezes contendo maior atividade antioxidante do que a polpa, além de fonte de nutrientes e fibras, o que reforça a importância de estudos que avaliem seus potenciais de utilização na nutrição humana (Cangussu, Fronza; Cavalcanti, 2020; Dimou et al., 2019; Reguengo et al., 2022). Além disso, as características tecnológicas de coprodutos têm demonstrado possibilidades de aplicação na elaboração de novas formulações alimentares, como produtos de panificação, bebidas e suplementos, aditivos texturizantes, aromatizantes, antioxidantes ou ainda como nutracêuticos, o que tem gerado a expectativa de geração de novas fontes

alimentares e diversificação na produção do setor alimentício e farmacêutico (Drabinska; Nogueira; Szymatowicz, 2022; Resende, Franca; Oliveira, 2019).

O buriti, conhecido cientificamente como *Mauritia flexuosa*, é uma planta nativa da região amazônica que produz um fruto altamente nutritivo. Este fruto é valorizado por seu sabor exótico e por seu potencial nutricional, sendo uma importante fonte de vitaminas, minerais e compostos bioativos. O epicarpo, que é a camada externa da fruta, é particularmente rico em antioxidantes e outros compostos benéficos. No entanto, apesar do seu valor potencial, há uma falta de dados detalhados sobre o perfil químico do epicarpo do buriti (Silva, Cavalcanti e Silva, 2023).

Dessa forma, pesquisas que aprofundem o conhecimento científico sobre a composição química do epicarpo do buriti podem promover seu consumo, produção e processamento (Barbosa et al. 2022; Pereira-Freire et al., 2022). Além disso, entender a composição dos coprodutos do buriti, como o epicarpo, pode incentivar o pleno aproveitamento e valorização desse fruto (Souza, Morais e Zuniga, 2024). Nesse sentido, o extrato hexânico e a fração insaponificável do epicarpo do buriti tornam-se alternativas vantajosas para aproveitamento de resíduos e criação de novos produtos. Extrair a fração insaponificável do epicarpo do buriti e utilizá-la como meio de enriquecer outros alimentos constitui uma alternativa valiosa, visando minimizar o descarte incorreto e inserir uma matriz vegetal rica nutricionalmente.

Ao identificar e estudar a composição nutricional de partes dos alimentos usualmente descartadas é possível direcionar melhor o seu uso em diversas aplicações tecnológicas. Para explorar essas aplicações, é necessário investir em pesquisa e desenvolvimento para entender melhor as propriedades do epicarpo do buriti e como elas podem ser otimizadas para cada uso específico. Análises químicas detalhadas, estudos de viabilidade econômica e desenvolvimento de tecnologias de processamento são etapas essenciais nesse processo.

Com base nesse contexto o estudo do epicarpo do buriti pode contribuir para diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU. Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) são uma iniciativa global estabelecida pela Assembleia Geral das Nações Unidas em setembro de 2015, com a finalidade de erradicar a pobreza, proteger o planeta e garantir que todas as pessoas desfrutem de paz e prosperidade até 2030. Cada ODS possui metas específicas e mensuráveis, abrangendo uma vasta gama de questões de desenvolvimento sustentável (ONU BR, 2015).

O buriti é uma fruta rica em nutrientes e compostos bioativos, e sua valorização pode ajudar a diversificar a dieta e melhorar a disponibilidade de alimentos nutritivos em regiões carentes, promovendo uma agricultura sustentável. Os compostos presentes no epicarpo, como antioxidantes e vitaminas, têm potencial para melhorar a saúde e prevenir doenças, podendo resultar no desenvolvimento de produtos funcionais que promovam o bem-estar. Além disso, o aproveitamento do epicarpo, que muitas vezes é um subproduto, pode reduzir o desperdício e estimular práticas de consumo mais responsáveis e sustentáveis. O cultivo do buriti também pode estar associado a práticas agroflorestais que ajudam a conservar o solo e reduzir a emissão de gases de efeito estufa, contribuindo para a mitigação das mudanças climáticas. Por fim, como planta nativa da região amazônica, o buriti pode promover a conservação dos ecossistemas naturais e incentivar a preservação das áreas onde é cultivado. Esses vínculos demonstram como a pesquisa e o uso do epicarpo do buriti podem apoiar a realização de vários ODS, trazendo benefícios econômicos, ambientais e sociais.

Diante do exposto, a tese intitulada: “Aplicações biotecnológicas do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*)” está estruturada em cinco capítulos nos quais resultou em um artigo de revisão já publicado, depósito de registro de duas patentes e dados que estão compilados em mais dois capítulos que serão submetidos a revistas internacionais originando duas publicações.

O primeiro capítulo refere-se à solicitação do depósito de registro do pedido de patente, que trata do processo de obtenção do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti. O segundo capítulo relata a caracterização química e quantificação dos compostos bioativos presentes no epicarpo do buriti, além da análise do perfil de minerais e ácidos graxos dessa parte do fruto em estudo. O terceiro capítulo, diz respeito a uma revisão integrativa, o qual abordou os aspectos mais importantes a respeito do efeito dos fitoesteróis e fitoesteróis na prevenção das dislipidemias por meio de evidências experimentais e clínicas. Para o capítulo realizou-se uma catalogagem de estudos recentes sobre a atuação de compostos bioativos da espécie *Mauritia flexuosa*, sobre as dislipidemias. O quarto capítulo exibe a solicitação do depósito de registro do pedido de patente, entregue ao NINTEC da UFPI, o qual seguirá para o INPI, sobre a bioformulação elaborada, uma vez que há uma necessidade crescente da transferência de tecnologia entre universidade e indústria, com o objetivo de favorecer a construção de pontes que beneficiem as ligações entre os setores econômico e social. O quinto capítulo complementa o anterior, com a aplicação

biológica em modelo experimental do peixe-zebra para avaliar parâmetros bioquímicos, além disso, foi avaliado por intermédio de testes *in vitro* a capacidade citotóxica das amostras. E por fim, na sequência foram apresentadas as considerações finais obtidas a partir desta tese. Assim, a tese, ao destacar o potencial do epicarpo do buriti, não apenas abre novas fronteiras para a pesquisa e desenvolvimento de produtos inovadores, mas também promove o crescimento sustentável das comunidades nordestinas. A valorização de subprodutos, como o epicarpo, representa uma oportunidade de transformar resíduos em recursos valiosos, gerando benefícios econômicos, ambientais e sociais significativos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar a constituição química, o potencial dos compostos bioativos e as aplicações biotecnológicas do epicarpo do buriti.

2.2 Objetivos específicos

- Estabelecer processo de extração da fração insaponificável do epicarpo do buriti e identificação de moléculas biologicamente ativas para aplicações biotecnológicas.
- Identificar os constituintes químicos do Extrato Hexânico e da Fração Insaponificável do Epicarpo do Buriti (*Mauritia flexuosa*).
- Catalogar evidências experimentais e clínicas atuais da ação dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das dislipidemias.
- Elaborar bioformulação contendo coprodutos do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*).
- Avaliar os parâmetros bioquímicos da bioformulação contendo coprodutos do epicarpo da *Mauritia flexuosa* (buriti) em modelo *Danio rerio* (peixe-zebra).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Buriti

A palmeira *Mauritia flexuosa* L.f. é uma das duas espécies do gênero *Mauritia*, pertencente à família Arecaceae e nativa da América do Sul. A espécie é amplamente distribuída, especialmente na região amazônica, na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guianas, Peru, Trinidad e Tobago, e Venezuela (Henderson et al., 2019). Seu nome vulgar pode variar de acordo com o país ou mesmo a região. Exemplos incluem “caranday-guazu” ou “palma real” (Bolívia), “buriti” (Bolívia e Brasil), “miriti” (Brasil), “aguaje” (Colômbia e Peru), “canangucho” (Colômbia e Equador), “morighe” (Colômbia e Venezuela), “morete” (Equador) e “ite palm” (Guiana). O fruto de *M. flexuosa* L.f. é altamente nutritivo e considerado uma importante fonte de compostos bioativos (Dos Santos Freitas e Alcântara, 2018; Santos et al., 2015; Freitas et al., 2018; Lescano et al., 2018).

O fruto de *M. flexuosa*, popularmente conhecido como buriti, aguaje ou moriche, é amplamente distribuído na América do Sul, principalmente em áreas pantanosas nas regiões amazônica e do cerrado, onde cresce em florestas homogêneas conhecidas como “buritizais” (Hoek, Solas & Penuela, 2019; Nobre et al., 2018; Virapongse et al., 2017). É uma palmeira dióica, alta e exuberante, com características únicas que permitem distingui-la facilmente de outras espécies, como o caule ereto, cilíndrico, sem pelos e solitário, medindo até 30 m de altura e 50–60 cm de diâmetro, e as 20–30 enormes folhas em forma de leque, medindo 5 m de comprimento e até 3 m de largura, além do interfoliar nos florescimentos (Cattani & Baruque-Ramos, 2016; Vieira et al., 2016).

Morfometricamente, o fruto do buriti possui uma drupa de formato oval, com epicarpo coberto por escamas triangulares marrom-avermelhadas, medindo 4–7 cm de comprimento, 3–5 cm de diâmetro e pesando 25–40 g. O mesocarpo é comestível, com uma polpa espessa e macia de cor amarelo-laranja vibrante, devido à alta concentração de carotenoides. Um epicarpo esponjoso envolve de 1 a 3 sementes tegumentares, oblongas, duras e esbranquiçadas (Moura Filho & Penna, 2017; Ferreira et al., 2018). Em geral, os frutos do buriti contêm 10–20% de mesocarpo, 10–20% de epicarpo e 40–45% de sementes, sendo o mesocarpo a parte mais explorada devido ao sabor agradável e ao conteúdo nutricional (Koolen et al., 2018).

É importante ressaltar que o buriti ainda é produzido de forma extrativista, embora essa planta seja facilmente propagada e represente uma ótima opção para manejo sustentável em suas áreas naturais (Koolen et al., 2018). O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) relata que a produção do buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) no Brasil é predominantemente extrativista, especialmente nas regiões Norte e Nordeste. Esse método envolve a coleta dos frutos diretamente das palmeiras nativas em áreas naturais, como florestas e várzeas, sem cultivo intensivo ou sistematizado. A produção extrativista do buriti é uma atividade tradicional que sustenta muitas comunidades locais e indígenas, promovendo a conservação dos ecossistemas naturais e da biodiversidade. Além disso, essa forma de produção minimiza impactos ambientais negativos, pois não requer desmatamento ou uso intensivo do solo. No entanto, a sustentabilidade dessa prática depende de um manejo cuidadoso e da implementação de estratégias de conservação que assegurem a regeneração natural das palmeiras e a continuidade dos recursos para as gerações futuras (IBGE, 2022).

Práticas sustentáveis são úteis para promover o desenvolvimento regional, expandir oportunidades de investimento empresarial e reduzir a vulnerabilidade do sistema alimentar (Ferreira et al., 2018; Manzi & Coomes, 2009). Portanto, a palmeira buriti representa um importante recurso para o fornecimento de matérias-primas para diversas indústrias, como a alimentícia, cosmética e de combustíveis, devido às suas características sensoriais, físico-químicas e biológicas (Souza et al., 2020).

3.1.1 Composição Química

A composição nutricional do buriti pode variar, dependendo do cultivo e/ou dos morfotipos, bem como da região de ocorrência, estação e período de colheita (Koolen et al., 2018; Milanez et al., 2018). A polpa do buriti é muito rica em minerais como Ca, K, Na, Fe, Mg, Mn, Zn e Cu, além de vitaminas A, B, C, E, fibras e óleos insaturados. Também possui alto teor de proteínas (cerca de 6,50 g.100 g⁻¹ de polpa bruta) e gorduras (de 14,28 a 45,70 g.100 g⁻¹) (Cândido & Silva, 2017; Darnet et al., 2011; Sandri et al., 2017; Vasquez-Ocmín et al., 2009). Da mesma forma, observou-se que os carboidratos variam de 7,28 a 26,20 g.100 g⁻¹ (Carneiro, 2011; Sandri et al., 2017; Silva & Pighinelli, 2017). Além disso, a polpa dos frutos maduros é rica em polissacarídeos pécnicos, e foram identificados polissacarídeos lineares incomuns, como (1 → 5)- α -L-arabinan, (1

→ 3)-(1 → 4)- α -D-glucano e (1 → 4)- β -D-xilano (Cantu-Jungles et al., 2015; Cordeiro, Almeida & Iacomini, 2015).

Os frutos do buriti apresentam uma ampla variedade de metabólitos secundários, incluindo tococromanóis, fitoesteróis, carotenoides e compostos fenólicos (Koolen et al., 2018). Estudos de composição química demonstraram que a polpa do buriti contém altos teores de ácidos graxos monoinsaturados (73,03 a 79,43 g.100 g⁻¹), muito semelhantes aos encontrados no azeite, com predomínio do ácido oleico (72,21 a 78,57 g.100 g⁻¹), seguido pelos ácidos palmítico, linoleico e γ -linolênico (Cândido & Silva, 2017; Cruz et al., 2020; Koolen et al., 2018; Nobre et al., 2018). O óleo de buriti é rico em tocoferóis, α -tocotrienol e δ -tocotrienol, sendo que o β -tocoferol e o α -tocoferol representam cerca de 80% dos tocóis metílicos totais (Serra et al., 2019). Os fitoesteróis variam de 18,30 a 23,32 g.100 g⁻¹, com o campesterol e o β -sitosterol (0,60 g.100 g⁻¹ e 7,66 g.100 g⁻¹, respectivamente) sendo os metabólitos mais abundantes (Bataglioni et al., 2019).

Os carotenoides são a classe de bioativos mais estudada no buriti, sendo o β -caroteno o mais abundante em sua polpa (9098,00 μ g.100 g⁻¹) (Sandri et al., 2017). No entanto, quantidades consideráveis de ξ -caroteno, δ -caroteno, γ -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina e xantofila (luteína) também podem ser encontradas (Agostini-Costa, 2018), o que faz do buriti uma grande fonte de vitamina A (Ferreira et al., 2018).

O conteúdo polar do buriti tem atraído muita atenção nos últimos anos. Apesar de sua baixa concentração em comparação com os níveis de carotenoides e tocoferóis, os compostos fenólicos também contribuem para as propriedades antioxidantes dessa matriz vegetal (Bataglioni et al., 2019). Em geral, o perfil fenólico do buriti é composto por ácidos fenólicos derivados do ácido hidroxicinâmico, flavonoides, glicosídeos flavonoides e antocianinas. As substâncias mais comumente encontradas são ácido quínico, ácido cafeico, orientina, apigenina, hesperetina, luteolina, morina, quercetina, kaempferol e catequina, entre outros (Bataglioni et al., 2019; Nonato et al., 2018; Resende, Franca & Oliveira, 2019).

3.1.2 Aplicações Biológicas

O mesocarpo, o epicarpo e o óleo do buriti têm sido investigados por seus valores nutricionais e sensoriais, sendo até mesmo considerados alimentos funcionais devido ao conteúdo de compostos bioativos, como carotenoides, tocoferóis, compostos

fenólicos e capacidade de sequestro de radicais. Esse valor nutricional pode contribuir para as propriedades farmacológicas e medicinais do buriti, como atividades hipoglicemiantes, antitumoral, antioxidante, quimiopreventiva e antimicrobiana, melhorando assim a saúde pública (Pereira-Freire et al., 2022).

A atividade anti-inflamatória do epicarpo, mesocarpo e endocarpo de frutos de *M. flexuosa* foi avaliada em fêmeas de ratos Swiss por Amorim et al. (2021), para investigar seus benefícios fisiológicos. Foram utilizados 100 mg de material pulverizado de epicarpo (casca), mesocarpo (polpa) ou endocarpo de frutos de *M. flexuosa*, reconstituídos separadamente em 1 ml de água. A dose ingerida pelos animais foi de 0,1 ml/10 g de peso corporal, administrada por gavagem. Para o tratamento, os ratos foram divididos em cinco grupos (n = 8 animais/grupo): pré-tratados por via oral com água destilada estéril (controle negativo), indometacina 10 mg/kg (medicamento de referência) ou solução aquosa dos extratos de epicarpo, mesocarpo e endocarpo (1000 mg/kg). Os frutos do buriti apresentaram benefícios fisiológicos e a capacidade de modificar etapas bioquímicas e celulares da cascata inflamatória, sugerindo que suplementos dietéticos contendo a fruta podem ser combinados. Segundo os autores, os achados foram decorrentes de altas doses orais (500 ou 1000 mg/kg); isto é, do ponto de vista nutricional, suplementos alimentares contendo *M. flexuosa* podem ser combinados com agentes terapêuticos farmacológicos para regular a homeostase, bem como serem administrados como parte importante de uma dieta balanceada, visando à prevenção de doenças inflamatórias.

Aquino et al. (2023) abordaram o efeito da ingestão de óleo de buriti em ratos com sobrecarga de ferro induzida pela administração de FeSO₄. Para isso, ratos Wistar (n = 32) foram alocados em dois grupos controle (dieta contendo óleo de soja ou óleo de buriti) e dois grupos que receberam alta dose oral diária de FeSO₄ (60 mg/kg de peso corporal), alimentados com dieta contendo óleo de soja ou óleo de buriti. Para avaliar o efeito do tratamento, foram determinados parâmetros somáticos e hematológicos, lipídios séricos, superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) após 17 dias de sobrecarga de ferro. Os autores concluíram que o óleo de buriti apresentou proteção antioxidante sistêmica e hepática em ratos com sobrecarga de ferro, possivelmente relacionada ao seu alto conteúdo de carotenoides, tocoferol e ácidos graxos.

Segundo Leão et al. (2017), os frutos do buriti podem atuar na prevenção dos efeitos neurocitotóxicos e comportamentais do metilmercúrio (MeHg). O estudo

envolveu a administração de duas dietas a ratos Wistar machos: uma dieta comercial contendo 23% de proteína bruta, 4% de extrato etéreo, 5% de fibra bruta, 10% de matéria mineral, 1,3% de cálcio e 0,85% de fósforo (n = 14) e uma dieta comercial suplementada com polpa de buriti (1:1 g/g) e água ultrapura (n = 14) durante sete dias. Após a intervenção, dois subgrupos — ração comercial (n = 7) e grupo suplementado com ração de buriti (n = 7) — foram expostos a 5 mg/kg/dia de MeHg por gavagem durante três dias. Um dispositivo de labirinto em T alto foi utilizado para avaliar o efeito do MeHg na aquisição de memória aversiva e no comportamento de pânico dos ratos. Após o teste comportamental, o hipocampo dos animais foi removido para determinar a peroxidação lipídica. O pré-tratamento com ração suplementada com *M. flexuosa* apresentou efeito protetor contra déficits cognitivos causados por MeHg e preveniu danos à membrana citoplasmática induzidos pela peroxidação lipídica na região do hipocampo.

Outra utilidade da polpa de buriti seria seu uso no tratamento de doenças inflamatórias intestinais, pois a suplementação em ratos evitou os danos causados por oxidantes derivados de neutrófilos, reduzindo os níveis das enzimas fosfatase alcalina e mieloperoxidase, que possuem alta toxicidade e modulam o estresse oxidativo, diminuindo os níveis de glutathione. Além disso, o buriti modulou o processo inflamatório, reduzindo as citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1 β e TNF- α), cuja produção está associada ao estresse oxidativo, e também aumentou a mucina, que promove a recuperação celular do intestino (Curimbaba et al., 2020).

Quanto à atividade antiproliferativa, destacam-se dois estudos: o primeiro, de Tauchen et al. (2016), em que o extrato aquoso da polpa de buriti inibiu a proliferação da linhagem celular de carcinoma de cólon (HT-29); e o segundo, de Miyasaka et al. (2021), em que os metoxiflavanos 4'-Hidroxi-5,7-dimetoxiflavan e 7,8,4'-trihidroxi-5-metoxiflavan, isolados da polpa de buriti, demonstraram citotoxicidade contra células de câncer de próstata.

A *Mauritia flexuosa* também apresentou atividade biológica antidiabética, verificada em estudos como o de Aydos et al. (2021), no qual a suplementação com óleo de buriti bruto (50 e 100 mg/kg) teve efeito protetor contra alterações metabólicas induzidas por dieta rica em gordura em camundongos C57BL/6, resultando no aumento dos níveis séricos de colesterol total, ácido úrico, glicose, triglicerídeos e outros marcadores de estresse oxidativo. Na dieta com óleo de buriti refinado (7% de óleo), houve melhora no perfil lipídico dos camundongos, com redução do colesterol total,

lipoproteína de baixa densidade, triglicerídeos e aspartato transaminase, quando comparada à alimentação dos ratos com óleo de soja in natura (Aquino et al., 2015). O efeito da farinha de polpa de buriti sobre biomarcadores de dano oxidativo foi avaliado no fígado, coração e pâncreas de ratos diabéticos. A suplementação (2% de farinha) da dieta padrão em ratos diabéticos promoveu redução do dano oxidativo nas proteínas do fígado e do coração (Lage et al., 2018).

No estudo de Rodrigues et al. (2024), o óleo de buriti demonstrou ser um candidato promissor para a prevenção e o tratamento de doenças gastrointestinais. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos gastroprotetores e antiúlcera do óleo de buriti e seus possíveis mecanismos de ação. O óleo de buriti reduziu a área ulcerativa e a peroxidação lipídica induzida por etanol. A atividade gastroprotetora do óleo de buriti dependeu parcialmente do óxido nítrico e de compostos sulfidrílicos. Nas úlceras gástricas induzidas por ácido acético, o óleo de buriti acelerou a cura e estimulou a formação de novas glândulas gástricas. Esses resultados demonstraram o potencial do óleo de buriti como ingrediente funcional para promover benefícios à saúde do trato gastrointestinal.

3.2 Coprodutos

Estima-se que aproximadamente 14% dos alimentos produzidos mundialmente são perdidos entre a produção e a pós-colheita. Em países desenvolvidos, esse desperdício se concentra principalmente no consumidor final, ao contrário do que ocorre em países em desenvolvimento, onde acontece ao longo de toda a cadeia de abastecimento (Chauhan, 2020). Para ilustrar, no setor da indústria processadora de frutas, de 30 a 50% das frações geradas são compostas por cascas ou sementes, que são em sua maioria descartadas. Mesmo com seu potencial, o aproveitamento ainda é considerado baixo (Nascimento Filho; Franco, 2015), estimulando a subutilização dos alimentos, um problema mundial que contribui para a insegurança alimentar e nutricional enfrentada por uma parcela significativa da população global (Chavan; Singh; Kaur, 2018; Igual et al., 2021).

A agroindústria de frutas é um dos segmentos mais relevantes da economia. No entanto, registra um dos maiores percentuais de perdas entre os setores produtivos, o que, além dos impactos econômicos, gera consequências ambientais e afeta a segurança

alimentar da população (Can-Cauich et al., 2017; Suri; Singh; Nema, 2021). Isso se deve, em parte, ao grande volume de resíduos gerados pelo processamento de produtos derivados de frutas, como sucos, geleias e produtos desidratados. Esses resíduos muitas vezes são descartados de maneira inadequada em aterros sanitários, cursos d'água ou incinerados, causando diversos danos ambientais e riscos à saúde. Esse cenário representa um grande desafio para a gestão de resíduos alimentares (Alexandri et al., 2022; Osorio; Flórez-López; Grande-Tovar, 2021).

As sementes e as cascas são geralmente classificadas como partes não comestíveis das frutas quando processadas ou consumidas in natura, embora diversos compostos e características funcionais que agregam valor a essas frações sejam amplamente documentados na literatura científica (Ali et al., 2020; Melo et al., 2022). Várias frações residuais do processamento de frutas podem ser utilizadas na alimentação humana (Melo et al., 2022). Para isso, uma etapa essencial é avaliar a composição dos coprodutos, que é influenciada por fatores como estágio de maturação, sazonalidade, espécie e época de colheita. Além disso, é crucial escolher o processo mais adequado para preservar os compostos de interesse sem causar danos à saúde do consumidor.

O aproveitamento integral de frutas e hortaliças (polpa, cascas, talos e folhas) na elaboração de novos produtos é uma alternativa tecnológica sustentável, acessível tanto ao ambiente industrial quanto ao residencial. A utilização sustentável dos alimentos reduz a produção de lixo orgânico, prolonga a vida útil do alimento, promove a segurança alimentar e beneficia a renda familiar. As frações sólidas desses alimentos contêm fibras alimentares, compostos fenólicos e substancial capacidade antioxidante (Ribeiro et al., 2020; Silva et al., 2009).

Considerando a composição do fruto do buriti e suas possíveis aplicações, pesquisadores têm ampliado estudos para avaliar o potencial dessa fruta e seus subprodutos como uma fonte local e acessível (Camelo-Silva et al., 2020). O epicarpo do buriti é uma fonte potencial de matéria insaponificável, contendo diversos nutrientes que podem ser utilizados como ingredientes funcionais no desenvolvimento de alimentos enriquecidos. Recentemente, o foco tem se voltado para os subprodutos do buriti como uma estratégia para o uso de resíduos, visando fornecer suplementos alimentares ricos em nutrientes. Mudanças no estilo de vida e a crescente demanda por

alimentos saudáveis e de alta qualidade têm impulsionado inovações tecnológicas na produção de alimentos enriquecidos (Henrichs et al., 2022).

Segundo o IBGE (2022), o Brasil produz cerca de 422 toneladas de frutos de buriti anualmente, que geram uma grande quantidade de resíduos passíveis de serem convertidos em coprodutos. De acordo com Resende et al. (2019), a extração do óleo resulta em 2500 toneladas/ano de cascas e aproximadamente 6000 toneladas/ano de endocarpos e farelo de polpa, que são, em grande parte, descartados na natureza. No entanto, esses resíduos, especialmente as cascas e o farelo, apresentam altos teores de antioxidantes e fibras, que podem ser aproveitados para o enriquecimento de alimentos e a produção de farinhas com elevado teor de polifenóis. Segundo os autores, um estudo da composição da fração polissacarídica das farinhas elaboradas com diferentes partes do fruto indicou a presença de xilose (casca e farelo), glicose (endocarpo) e arabinose (farelo de polpa desengordurada) como os principais carboidratos. O resultado mostrou que as farinhas dos subprodutos podem ser fontes relevantes de fibras alimentares e antioxidantes naturais, com variações na composição e no desempenho antioxidante de acordo com as funções botânicas de cada parte do fruto (Coradin, Camillo e Vieira, 2022).

Pereira-Freire et al. (2018) avaliaram o perfil fitoquímico e o potencial antioxidante da *Mauritia flexuosa* e verificaram que as cascas dos frutos apresentaram valores superiores de fenóis, flavonoides, carotenóides, taninos e ácido ascórbico em comparação com a polpa e o endocarpo. Todas as amostras apresentaram capacidade de sequestrar radicais livres, porém as cascas demonstraram maior ação em todos os métodos analisados. Os compostos fenólicos apresentaram atividade gastroprotetora e protegeram células sanguíneas de ratos contra a lise induzida por radicais peróxido. O estudo destacou o potencial quimiopreventivo dos frutos e seus coprodutos, especialmente as cascas, apontando para a necessidade de ampliar as investigações para otimizar o uso desses coprodutos na formulação de alimentos enriquecidos para humanos e rações para animais, além de permitir um aproveitamento mais integral desse importante recurso alimentar.

A casca liofilizada do fruto da *Mauritia flexuosa* pode ser utilizada como agente antioxidante em formulações de medicamentos, cosméticos, ingredientes alimentares e produtos nutricionais (Pereira-Freire et al., 2018). O extrato da folha de *Mauritia*

flexuosa foi empregado na criação de uma formulação farmacêutica com ação microbicida contra diversas bactérias e fungos de interesse clínico para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas (Figueiredo et al., 2018).

3.2.1 Potenciais aplicações tecnológicas do buriti

O buriti possui um vasto e diversificado potencial de aplicações tecnológicas em várias indústrias, desde a alimentação e nutrição até os setores cosmético, farmacêutico, de biocombustíveis e sustentabilidade. O desenvolvimento de tecnologias e produtos a partir do buriti pode não apenas agregar valor econômico, mas também promover práticas sustentáveis e beneficiar a saúde e o bem-estar da população (Coradin, Camillo e Pareyn, 2018).

A farinha do endocarpo do buriti, aplicada na produção de biscoitos integrais sem glúten, demonstrou potencial como fonte de fibras para pacientes celíacos (Becker et al., 2014). Microcápsulas contendo emulsões de óleo de buriti, produzidas por secador spray, mostraram-se eficientes no enriquecimento de alimentos com carotenóides (Moser et al., 2019; Ribeiro et al., 2020), oferecendo uma alternativa eficaz para a substituição de corantes artificiais.

O biscoito elaborado com 15% de óleo de buriti obteve boa aceitação, com maior conteúdo de proteínas, minerais e vitamina A. Esse subproduto do óleo de buriti pode ser uma alternativa nutritiva para a inclusão de fontes de vitamina A na dieta escolar, onde há disponibilidade do fruto para a produção dos biscoitos (Aquino et al., 2012). Em outra aplicação, utilizando a farinha do endocarpo do buriti para substituir a farinha de trigo na produção de biscoitos, foram testados vários percentuais: 0%, 5%, 10%, 15% e 20%. Os biscoitos sem glúten, feitos com até 15% de farinha do endocarpo de buriti, foram bem aceitos pelos consumidores. Além disso, essa alteração na formulação aumentou a disponibilidade de ingredientes funcionais, como fibras alimentares, para consumidores celíacos (Becker et al., 2014).

O estudo de Anjos et al. (2023) teve como objetivo desenvolver um filme à base de gelatina, incorporado com óleo de buriti extraído por propano pressurizado, para conservar queijo de coalho. A incorporação do óleo de buriti na matriz de gelatina permitiu a obtenção de um filme biocomposto ativo. O óleo influenciou algumas propriedades físico-químicas do filme, como a redução da permeabilidade ao vapor d'água. A análise microestrutural revelou a presença de gotículas lipídicas na matriz do

filme após a secagem. Além disso, o óleo conferiu ao filme atividades antioxidante e antimicrobiana, devido à sua composição fenólica.

Outra aplicação semelhante refere-se à patente BR 10 2023 014785 2, que descreve um filme comestível e biodegradável para uso nas indústrias alimentícia e farmacêutica, desenvolvido a partir de galactomanana (*Caesalpinia pulcherrima*) e óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.). O filme, composto por um polissacarídeo (galactomanana) e um óleo fixo de buriti, pode ser empregado na conservação e/ou acondicionamento de produtos alimentícios ou farmacêuticos, com o diferencial de conter compostos bioativos, especialmente carotenóides. A utilização do óleo de buriti no desenvolvimento do filme proporcionou melhores parâmetros estruturais e um perfil interessante para a permeabilidade ao vapor de água e solubilidade, quando comparado a filmes desenvolvidos apenas com polissacarídeos.

Braga-Souto et al. (2022) realizaram um estudo com o objetivo de caracterizar o farelo de buriti parcialmente desengordurado (PDBB) e investigar os efeitos da substituição de 10%, 20% e 30% da farinha de trigo por PDBB sobre as propriedades tecnológicas e sensoriais de bolos de chocolate. A formulação com 20% de PDBB obteve os melhores escores de aceitação e a maior intenção de consumo, demonstrando que o farelo de buriti é um ingrediente promissor para a indústria alimentícia, devido ao seu perfil nutricional e suas qualidades tecnológicas e sensoriais, especialmente quando aplicado na fabricação de bolos.

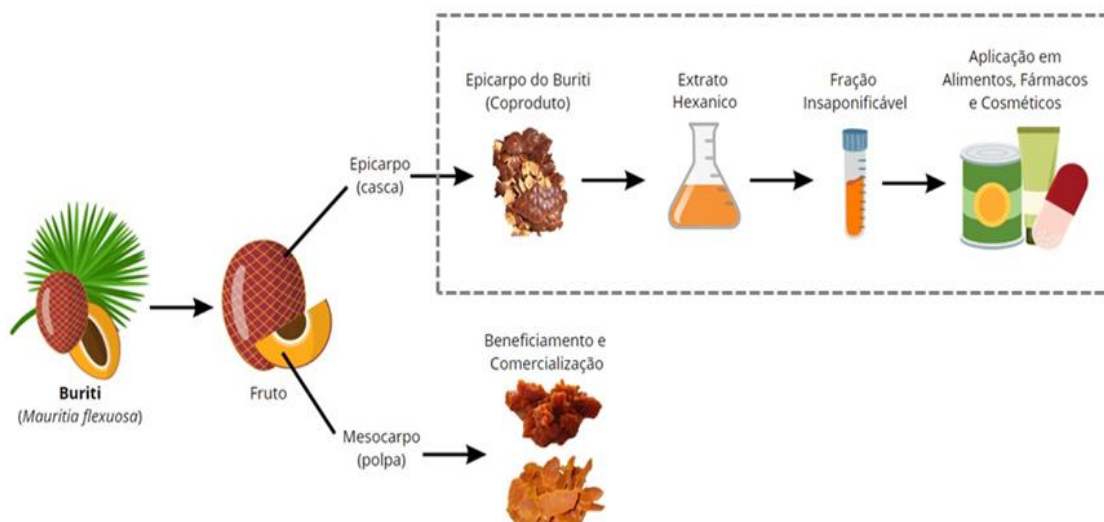
O buriti possui um vasto potencial tecnológico em diversas indústrias, desde alimentos e cosméticos até farmacêutica e biocombustíveis. Seu uso sustentável pode contribuir para o desenvolvimento econômico e a conservação ambiental, além de oferecer benefícios à saúde humana através de seus compostos bioativos (Coradin, Camillo e Pareyn, 2018).

4 RESULTADOS

CAPÍTULO 01

PATENTE 01: Processo de obtenção da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*) para aplicações biotecnológicas.

Figura 1. Resumo gráfico da obtenção da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*).



Fonte: Autoria própria



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2024 010620 2

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 06517387000134

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella

Cidade: Teresina

Estado: PI

CEP: 64049550

País: Brasil

Telefone: 8632371638

Fax: 8632371638

Email: nintec@ufpi.edu.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em
28/05/2024 às 10:26, Petição 870240045014

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (MAURITIA FLEXUOSA) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLÓGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

Resumo: A presente invenção refere-se ao processo de obtenção da Fração Insaponificável a partir do epicarpo do buriti (Mauritia flexuosa) - FIEB e identificação das moléculas biológicas ativas. Refere-se ao extrato hexânico e seus derivados, ao processo de obtenção do extrato e seus derivados, incluindo ativos da fração insaponificável, da espécie Mauritia flexuosa pertencente à família Areaceae e seu emprego na composição ou formulações de medicamentos, cosméticos, suplementos e aditivos alimentares, biofármacos e droga vegetal com ação terapêutica e profilática, destinadas ao uso humano e animal e, também seu emprego na área da biotecnologia. As etapas de extração e obtenção de extrato triturado do epicarpo, coproduto do fruto da Mauritia flexuosa, ocorreu com solvente específico, resultando em um extrato hexânico do epicarpo do buriti, e na sequência, ocorreu a obtenção da fração insaponificável, que foi conduzida a partir da reação de saponificação utilizando uma solução hidroalcoólica de KOH (2M). Essa fração apresentou compostos biologicamente ativos obtidos do epicarpo do buriti, possui ampla aplicação na indústria biotecnológica devido às suas propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras, que são aplicáveis tanto para consumo humano quanto animal. Importante destacar que a aplicação de coprodutos como o epicarpo, são essenciais para ampliar investigações científicas e a exploração de novos produtos sustentáveis que proporcionem finalidades e aplicações científicas e mercadológicas mais amplas que gerem, inclusive, rendimento e segurança alimentar para as comunidades locais e regionais. A presente patente pertence ao setor técnico de biotecnologia de produtos naturais.

Figura a publicar: Fig



RELATÓRIO DE INVENÇÃO

1.DADOS DO(S) CO-TITULAR(ES)

Nome Institucional/Empresarial: Universidade Federal do Piauí		CNPJ: 06.517.387/0001-34
Endereço:		CEP:
Fone:	Fax:	E-mail:
Representante Legal (Nome completo):		
Identidade N°:	Órgão expedidor:	Data de emissão:
CPF:	Data nascimento:	Estado Civil:
Nacionalidade:		Naturalidade:
Endereço Residencial Completo:		
Telefone Residencial:		Celular:
Telefone Institucional/Empresarial:		Celular Institucional/Empresarial:
% Participação/Royalties: 30%		

3.DADOS DA INVENÇÃO

Área predominante da tecnologia

(X)Biotecnologia	()Farmácia	() Química	()Alimentos	()Engenharia	Outra:
--------------------	-------------	-------------	--------------	---------------	--------

Título: Processo de obtenção da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*) e identificação de moléculas biologicamente ativas para aplicações biotecnológicas

Palavras chave

Português	Inglês
Processo	Process
<i>Mauritia flexuosa</i>	<i>Mauritia flexuosa</i>
Compostos bioativos	Bioactive compounds
Fração insaponificável	Unsaponifiable fraction

Campo da invenção

A presente invenção diz respeito ao processo de extração, saponificação e obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica do epicarpo do buriti (FIEB) (*Mauritia flexuosa*) com passos para identificação das moléculas biologicamente ativas. A

principal inovação reside no desenvolvimento do processo voltado especificamente para a obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica do epicarpo de buriti, um coproduto agroindustrial de potencial aplicação biotecnológica em virtude da presença de compostos fitoquímicos. Este método visa a obtenção da fração insaponificável de um coproduto do fruto da *Mauritia flexuosa*, bem como a identificação dos compostos bioativos dessa fração, para ampla aplicação na indústria biotecnológica devido às suas propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras, que são aplicáveis tanto para consumo humano quanto animal.

Fundamentos da Invenção

O buritizeiro é uma palmeira da família *Arecaceae*. Pertencem a esta família, algumas plantas muito conhecidas, como o coqueiro e a tamareira, abrangendo cerca de 240 gêneros e 2.600 espécies distribuídas nas subfamílias *Calamoideae*, *Nypoideae*, *Coryphoideae*, *Ceroxyloideae* e *Arecoideae*, distribuídas pelo mundo, mas concentradas em regiões tropicais e subtropicais (DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J. HARLEY, M. M.; LEWIS C. E. A New Phylogenetic Classification of the Palm Family, *Arecaceae*. **Kew Bulletin**, v. 60, p. 559-569, 2005). A *Mauritia flexuosa* apresenta ampla distribuição geográfica na América do Sul, em áreas alagadas no Nordeste do Brasil (nos limites da Caatinga) e no Cerrado do Brasil Central, conhecidas por veredas ou buritizais (CANUDO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 1196-1205, 2010).

Essas palmeiras são caracterizadas por serem altas, dióicas, quando adultas, com até 30 m e caule de 20-50 cm de diâmetro, solitário e liso (MARTINS et al., 2010). Os frutos são castanho-avermelhados, oblongo-globosos, medindo entre 4-5 cm e possuem o epicarpo ou casca, que são escamas sobrepostas de cerca de 6 mm, mesocarpo carnoso, além de endocarpo, que possui baixa densidade e grande quantidade de fibras. As sementes (ou endosperma) do fruto são revestidas pelo endocarpo e podem ser classificadas como recalcitrantes, em virtude de sua dureza. Elas ocupam a maior parte do volume do fruto, com 4,86 g de massa e 57% de umidade (LORENZI et al., 2004; MARTINS et al., 2010).

O buriti (*Mauritia flexuosa*) é um fruto de aspectos fitoquímicos e etnofarmacológicos importantes de amplo uso popular que nos últimos anos tem sido alvo

de muitas pesquisas científicas, considerando suas características funcionais e diversas atividades biológicas comprovadas, incluindo importantes propriedades nutricionais e biológicas, como atividade antioxidante (PEREIRA-FREIRE, J.A. et al. Nutritional, physicochemical and structural parameters of *Mauritia flexuosa* fruits and by-products for biotechnological exploration of sustainable goods. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 155-165, 2022) e anti-inflamatórias (AMORIM, V. R. et al. Anti-inflammatory mechanisms of fruits and by-products from *Mauritia flexuosa*, an exotic plant with functional benefits. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 84, n. 11, p. 441-457, 2021), despertando interesse nas indústrias de alimentos, farmacológicas e no campo científico-tecnológico da nanotecnologia.

O buriti é um fruto de sabor e aroma fortes e característicos, é rico em compostos bioativos e lipídios, e a sua utilização de forma integral propicia redução dos impactos ambientais e proporciona a utilização dos coprodutos em diversas áreas da indústria. É importante ressaltar que o epicarpo do buriti, é um coproduto da agroindústria de alimentos que possui resultados expressivos de ácidos graxos, além de fitoesteróis e minerais já referenciados na literatura científica (PEREIRA-FREIRE, J.A. et al. Nutritional, physicochemical and structural parameters of *Mauritia flexuosa* fruits and by-products for biotechnological exploration of sustainable goods. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 155-165, 2022).

Os nutrientes do buriti podem ser usados para prevenir doenças neurodegenerativas e é uma excelente fonte de compostos bioativos com propriedade antioxidante, hipolipemiante, protetor solar, antiplaquetário, antitrombótico, hipoglicêmico, antimicrobiano e antitumorais (FREIRE, J.A. **Caracterização Nutricional, Potencial Quimiopreventivo e Toxicidade de *Mauritia flexuosa* (Buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais**. 2018. Tese de Doutorado). Com base nessas informações pode-se identificar e estudar a composição nutricional de partes do buriti, usualmente descartadas, como o epicarpo, e assim direcionar melhor o seu uso em aplicações tecnológicas.

O epicarpo do buriti possui uma elevada concentração de ácidos graxos monoinsaturados (68,2%) em especial para o ácido oleico, com 67,4% da matriz seca, evidenciando também a presença de ácidos graxos poli-insaturados, com uma concentração de 2,1% de ácido linoleico. Outro ponto importante a ser destacado é a presença de fitoesteróis no epicarpo do buriti, sendo a única parte do fruto que evidenciou quantidades deste grupo bioativo, com predominância para o β -sitosterol (1,4%) (FREIRE, J.A.

Caracterização Nutricional, Potencial Quimiopreventivo e Toxicidade de *Mauritia flexuosa* (Buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais. 2018. Tese de Doutorado).

Os fitoesteróis compreendem a maior parte da fração insaponificável da maioria dos óleos e gorduras comestíveis e as frações majoritárias são β -sitosterol, campesterol e estigmasterol (LEONG, W.F. et al. Optimization of processing parameters for the preparation of phytosterol microemulsions by the solvent displacement method. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8426-8433, 2009; IZADI, Z.; NASIRPOUR, A.GAROUSI, G. Optimization of phytosterols dispersion in an oil/water emulsion using mixture design approach. **Journal of dispersion science and technology**, v. 33, n. 12, p. 1715-1722, 2012).

De modo geral, os compostos insaponificáveis constituem a fração lipídica que, após ação prolongada de uma base alcalina (saponificação), permanece insolúvel na água e pode ser extraída por um solvente orgânico (SALDANHA, T. et al. HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4107-4113, 2006). A composição da fração insaponificável possui ampla natureza química: esteróis, álcoois triterpênicos, hidrocarbonetos, ácidos graxos livres e outras substâncias biologicamente ativas, que determinam a ação nutricional e ou farmacológica da fração (GORIAINOV, S.V., ESPARZA, C.A., BORISOVA, A.R. et al. Phytochemical Study of the Composition of the Unsaponifiable Fraction of Various Vegetable Oils by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. **J Anal Chem** 76, 1635–1644, 2021).

As plantas possuem diversas propriedades biofarmacológicas, fitoquímicas e a escolha do método extrativo mais adequado que mantenha os metabólitos ativos e estáveis nas suas formas terapêuticas se torna um tema de extrema importância, visto que a maneira como ocorre essa extração dos constituintes químicos da planta irá influenciar o potencial farmacológico e a sua composição (CARVALHO, T.F. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro do extrato seco de *Hyptis pectinata* (L.) poit.** 2019).

Descrição detalhada da Invenção

Os frutos de buriti (*Mauritia flexuosa*) para a produção dos extratos foram coletados na cidade de Água Branca, estado do Piauí, latitude 5° 54'S; longitude 42°38'W, no mês de dezembro de 2014. Os exemplares foram incorporados ao acervo do Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob o número de exsicata 30567.

Para obter a fração insaponificável (Figura 1), o epicarpo foi separado do fruto, seco a 50°C em estufa à vácuo por 72 h, transformado em pó (1 kg) por trituração e submetidos à extração por maceração a frio, utilizando-se hexano (2 L) como solvente durante 72 h. O solvente foi removido sob vácuo em rotoevaporador, obtendo-se, assim, o extrato bruto hexânico do epicarpo do buriti. O rendimento total do extrato hexânico de *Mauritia flexuosa* foi de 2,5%. Após a evaporação do solvente, o extrato hexânico foi submetido à saponificação seguida de reação de metilação de acordo com metodologia descrita por Hartman & Lago (1973) (Hartman, L., & Lago, R. C. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory practice**, 22 (6), 475-476, 1973), com adaptações e a fração foi submetida a análise em CG-MS. O rendimento total da fração insaponificável de *Mauritia flexuosa* foi de 11,0% em relação ao extrato hexânico.

Figura 1. Resumo gráfico da obtenção da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*).

Para a presente invenção, obteve-se os perfis cromatográficos por meio de análise em cromatografia gasosa acoplado a espectrofotometria de massas (CG-MS) para identificação, quantificação e similaridade dos principais constituintes da fração insaponificável do epicarpo do buriti. Os principais constituintes foram identificados por interpretação do padrão de fragmentação dos respectivos espectros de massas (Figura 2 e Figura 3), comparação com dados da biblioteca Nist08 e com dados da literatura (ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. **Gruver, TX USA: Texensis Publishing**, 2017). A quantificação foi realizada, usando curva de calibração externa, usando o colesterol como padrão de síntese (Figura 4).

Figura 2. Cromatograma de Íons Totais (TIC), com destaque para o majoritário, β -Sitosterol (18).

Figura 3. Cromatograma de Íons Monitorados (MIC) m/z 213, característicos de fitosteróis e m/z 218, característico de alguns terpenos.

Figura 4. Curva de calibração com o colesterol como padrão de síntese.

A curva foi construída usando o padrão de Colesterol (Sigma-Aldrich, 98%) diluído

em hexano, nas concentrações indicadas na Tabela 1 e a partir da equação da reta. Assim foi possível calcular as concentrações dos principais componentes identificados na amostra (Quadro 1). De modo que, os resultados aqui apresentados, foram analisados em triplicata, utilizando método sensível e específico e foi possível otimizar o processo de obtenção das moléculas biologicamente ativas da fração insaponificável, que mostra a relevância da presente invenção.

Tabela 1. Concentrações de padrão de Colesterol (Sigma-Aldrich, 98%) diluído em hexano, utilizadas para construção da curva de calibração.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Área do sinal
20	17327
30	30416
50	64733
70	99898
80	119401
90	132458

$\mu\text{g/mL}$: micrograma por mililitro.

Quadro 1. Identificação, quantificação e similaridade dos principais compostos via CG-EM na fração insaponificável do epicarpo do buriti.

SINAL	NOME	Fórmula Molecular	MM (g/mol)	Massa*
1	2(4H)-Benzofuranona	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$	180,2	22,08
2	2-Pentadecanona	$\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}$	226,40	6,94
3	Acetato de farnesil	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}$	262,4	4,86
4	Ácido Hexadecanoico	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	256,42	3,06
5	1-Hexadecanol	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{OH}$	242,44	3,35
6	Fitol	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$	296,5	7,49
7	Ácido cis-Vaccenico	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	282,46	13,48
8	Isômero do farnesol	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	222,37	3,04
9	4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	$\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_2$	324,5	5,83
10	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaeno	$\text{C}_{24}\text{H}_{38}$	326,6	11,82
11	γ -Tocopherol	$\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_2$	416,7	32,84
12	Isômero do γ -Tocopherol	$\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_2$	416,7	11,25
13	1-Heptacosanol	$\text{C}_{27}\text{H}_{56}\text{O}$	396,7	20,35
14	α -Tocoferol	$\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$	430,71	30,29
15	Ergosterol	$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$	400,6	33,27
16	Stigmasterol	$\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$	412,69	74,23

17	1-Octacosanol	C ₂₈ H ₅₈ O	410,76	30,25
18	β-Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	414,7	405,67
19	Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	C ₂₉ H ₄₈ O	412,3	14,90
20	Olean-12-en-3-ol	C ₃₀ H ₅₀ O	426	14,43
21	Lupeol	C ₃₀ H ₅₀ O	426	16,44
22	9,19-Ciclolanost-24-en-3-ol	C ₃₀ H ₅₀ O	426	17,37

Legenda: *mg do composto/mg de insaponificáveis.

Os fenólicos totais foram quantificados de acordo com o método descrito por Singleton e Rossi (1965) (Singleton, V. L., & Rossi, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965). Resumidamente, 7,5 mg da amostra dissolvida em metanol foram misturados com o reagente Folin-Ciocalteu na proporção de 1:5. Água destilada e Na₂CO₃ (15%) foram adicionados e a absorbância foi medida a 425 nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão e o conteúdo fenólico foi expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de amostra (Tabela 2).

O método de Kefayati et al. (2017) (Kefayati, Z., Motamed, S., Shojaii, A., Noori, M., & Ghods, R. Antioxidant activity and phenolic and flavonoid contents of the extract and subfractions of *Euphorbia splendida* Mobayen. **Pharmacognosy Research**, v. 9, n.4, p. 362, 2017) foi utilizado para determinar o teor de flavonóides. Uma solução de cloreto de alumínio a 2,5% foi adicionada a seis mg da amostra. Após 30 minutos, a absorbância foi medida a 425 nm. A quercetina foi usada como padrão de calibração. Os resultados foram expressos como equivalentes de quercetina por miligrama de extrato (mgE Quer/g Extrato).

Os foram realizados em triplicata e as medições de absorbância foram realizadas utilizando um leitor de microplacas (Sinergy 2, Biotek). Após a quantificação do teor de compostos fenólicos, diferentes lotes de amostras foram padronizados quanto à porcentagem de flavonóides encontrada pela mistura de lotes com diferentes concentrações de flavonóides.

Tabela 2. Conteúdo de fenóis totais e de flavonoides da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*)

Compostos	Quantidade
Fenóis Totais	- 34,12 mg GAE/g de extrato ± 0,0
Flavonoides	- 0,34 mg QE/g de extrato ± 0,23

GAE/g: equivalentes ao ácido gálico por grama do extrato; QE/g: Equivalentes à quercetina por grama de extrato.

Na avaliação do potencial antioxidante direto, uma faixa de concentração da amostra (0.15, 0.3, 0.7, 1.5, 3.12, 6.25, 12.5 e 25 mg/mL) foi utilizada nos testes DPPH e ABTS, a fim de verificar a capacidade antioxidante e para determinar a concentração capaz de inibir 50% dos radicais livres (CI_{50}).

O método de eliminação de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi realizado de acordo com o protocolo de Blois (1958) (Blois, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, 1958). Às soluções amostrais foram adicionados 3,9 mL de DPPH (6,5×1050) e a absorbância foi medida no comprimento de onda de 515 nm.

O ensaio ABTS foi realizado de acordo com Miller et al. (1993) (Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**, v.84, n.4, p. 407–412, 1993). O radical ABTS⁺ foi preparado pela reação de 5 mL da solução ABTS com 88 µL de solução de persulfato de potássio, ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16 horas. Para obter uma absorbância de 0,70 nm ± 0,05 nm a 734 nm, a solução radical foi então diluída em álcool etílico. As amostras e os padrões diluídos foram incubados com solução ABTS⁺ por 10 minutos a 37°C em banho-maria. Ao final dos 10 minutos, monitorou-se a diminuição da absorbância a 734 nm. Os testes antioxidantes foram realizados em triplicata, com quercetina e ácido gálico servindo como antioxidantes padrão para DPPH e ABTS, respectivamente. A porcentagem de inibição foi calculada pela fórmula: Atividade antioxidante (%) = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100$; onde A_0 = absorbância do controle e A_1 = absorbância da amostra (Tabela 3).

Tabela 3. Percentual de inibição de radicais DPPH e ABTS pela Fração Insaponificável do epicarpo do buriti.

Concentração (mg/mL)	% de inibição	
	DPPH	ABTS
50	96,8	81,3
25	94,2	67,8
12,5	78,2	55,9
6,25	32,6	40,8
3,125	20,4	33,7
1,5625	7,35	22,3
0,0	0,0	0,0

	Fração Insaponificável do Epicarpo do buriti	Padrão Ácido gálico
DPPH (IC ₅₀) mg/mL	7,92	0,009
ABTS (IC ₅₀) mg/mL	8,10	0,021

IC₅₀: Concentração inibitória capaz de sequestrar 50% dos compostos oxidantes no meio reacional.

A análise de citotoxicidade foi realizada pelo método do MTT, descrito por Mossman (1983) (MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983), nas células (L929 e CT26.WT), que foram plaqueadas na concentração de 5×10^3 cél/poço/100 µL. Após 24h, as células foram submetidas ao tratamento e foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, adicionou-se 20 mL da solução de MTT (sal de tetrazolium) solubilizado em PBS estéril, e as placas foram incubadas por 4h. A absorbância foi lida após a dissolução do precipitado com 100 mL de DMSO puro em espectrofotômetro de microplaca a 560 nm.

A linhagem de sarcoma foi plaqueada na concentração de 5×10^5 céls/mL e tratada no mesmo dia com as amostras. A análise de citotoxicidade neste protocolo foi realizada por meio do ensaio Alamar Blue, após 72h de tratamento, por meio da aplicação da resazurina. A leitura do teste procedeu por análise da intensidade de fluorescência utilizando o leitor de placas, com excitação em 520 nm e emissão em 580-640 nm.

A fração insaponificável do epicarpo do buriti, avaliada na concentração única de 100 µg/mL, interferiu significativamente na viabilidade celular de todas as linhagens testadas ($p < 0,05$), como demonstrado na Figura 5. Os percentuais de inibição estão descritos na tabela 4.

Figura 5. Viabilidade de células de carcinoma de colon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos tratados por 72 h com a fração insaponificável do buriti (*Mauritia flexuosa*). Média $\pm$ E.P.M.. *Test T de Student ($p < 0,05$).

Tabela 4. Percentual de inibição do crescimento celular da fração insaponificável do buriti avaliado em concentração única em linhagens de carcinoma de cólon, sarcoma e fibroblasto murinos após 72h de exposição.

AMOSTRA	% Inibição do crescimento*		
	CT26.WT	S180	L929
Veículo	0,0 ± 1,13	0,0 ± 2,88	0,0 ± 3,32
FIEB	35,88 ± 1,34	58,23 ± 6,08	84,53 ± 1,53

*Percentual de inibição do crescimento celular expressos pela média ± E.P.M (Erro Médio Padrão)

Resumo da invenção

A presente invenção refere-se ao processo de obtenção da Fração Insaponificável a partir do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*) - FIEB e identificação das moléculas biológicas ativas. Refere-se ao extrato hexânico e seus derivados, ao processo de obtenção do extrato e seus derivados, incluindo ativos da fração insaponificável, da espécie *Mauritia flexuosa* pertencente à família *Arecaceae* e seu emprego na composição ou formulações de medicamentos, cosméticos, suplementos e aditivos alimentares, biofármacos e droga vegetal com ação terapêutica e profilática, destinadas ao uso humano e animal e, também seu emprego na área da biotecnologia. As etapas de extração e obtenção de extrato triturado do epicarpo, coproduto do fruto da *Mauritia flexuosa*, ocorreu com solvente específico, resultando em um extrato hexânico do epicarpo do buriti, e na sequência, ocorreu a obtenção da fração insaponificável, que foi submetida à saponificação seguida de reação de metilação. Essa fração apresentou compostos biologicamente ativos obtidos do epicarpo do buriti, possui ampla aplicação na indústria biotecnológica devido às suas propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras, que são aplicáveis tanto para consumo humano quanto animal. Importante destacar que a aplicação de coprodutos como o epicarpo, são essenciais para ampliar investigações científicas e a exploração de novos produtos sustentáveis que proporcionem finalidades e aplicações científicas e mercadológicas mais amplas que gerem, inclusive, rendimento e segurança alimentar para as comunidades locais e regionais. A presente patente pertence ao setor técnico de biotecnologia de produtos naturais.

A novidade da invenção

A principal inovação reside no desenvolvimento do processo voltado

especificamente para a obtenção da fração insaponificável e identificação das moléculas biológicas ativas tais como: rica em tocoferóis, esteróis e fitoesteróis, terpenos e terpenóides, derivada do epicarpo de buriti, um coproduto agroindustrial de potencial aplicação. Este método visa a extração dos compostos bioativos presentes nesta fração com ampla aplicação na indústria biotecnológica devido às suas propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras, que são aplicáveis tanto para consumo humano quanto animal.

Importante destacar que a aplicação de coprodutos como o epicarpo, são essenciais para ampliar investigações científicas e a exploração de novos produtos sustentáveis que proporcionem finalidades e aplicações científicas e mercadológicas mais amplas que gerem, inclusive, rendimento e segurança alimentar para as comunidades locais e regionais.

Quais as vantagens da presente invenção? Quais problemas ela resolve?

1. Sustentabilidade:

Esta invenção destaca-se pela sua abordagem sustentável, utilizando um coproduto agroindustrial, frequentemente negligenciado, como sua base. Ao aproveitar partes do fruto do buriti que normalmente seriam descartadas, reduzimos o impacto ambiental e promovemos uma gestão mais eficiente dos recursos naturais.

2. Ampla aplicação dos compostos bioativos:

Destacamos a versatilidade desta invenção ao explorar os compostos bioativos do buriti, que encontram aplicação em diversos setores, incluindo alimentício, farmacêutico e cosmético. Ao fornecer uma fonte sustentável de ingredientes naturais com benefícios para a saúde, abrem-se novas oportunidades para a indústria, promovendo o bem-estar e a inovação.

3. Desenvolvimento econômico regional:

Esta invenção possui um potencial significativo para impulsionar o desenvolvimento econômico das regiões onde o buriti é cultivado. Ao oferecer uma nova fonte de renda para as comunidades locais, diversificamos as atividades econômicas da região, reduzindo sua dependência de uma única fonte de renda e contribuindo para o crescimento sustentável.

4. Valorização do conhecimento tradicional:

Reconhecemos a importância de preservar e promover o conhecimento tradicional sobre o uso sustentável dos recursos naturais, como o buriti. Esta invenção contribui para aumentar

a conscientização sobre os benefícios nutricionais e econômicos dessa planta, incentivando práticas de cultivo e colheita sustentáveis, e honrando as tradições das comunidades locais.

Estágio de desenvolvimento com relação à comercialização

- () Estágio embrionário (falta muito investimento para disponibilizá-lo ao mercado)
 () Parcialmente desenvolvido (poderá ser levado ao mercado com um investimento razoável)
 (x) Desenvolvido (pode ser levado ao mercado com um investimento mínimo)

4. ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO (x) SIM () NÃO
--

Para o desenvolvimento da tecnologia houve pesquisa com:

(X) Animais, vegetais, microorganismos e fungos de origem brasileira.

Em caso afirmativo, especificar:

A obtenção da Fração Insaponificável do Epicarpo do Buriti - *Mauritia flexuosa* (FIEB) foi proveniente do extrato apolar do epicarpo do buriti que é obtido por um processo de extração a frio conhecido como maceração e que utilizou como solvente o hexano.

() Material genético ou protéico proveniente de organismos da flora ou fauna brasileira, mesmo que a partir de banco de dados ou informações de artigos científicos.
--

Em caso afirmativo, especificar:

() Conhecimento tradicional associado à biodiversidade*.
--

Em caso afirmativo, especificar:

* Acesso a conhecimento tradicional associado à biodiversidade: obtenção de informação sobre conhecimento ou prática individual ou coletiva, associada ao patrimônio genético, de comunidade indígena ou de comunidade local ou tradicional, para fins de pesquisa científica, desenvolvimento tecnológico ou bioprospecção, visando sua aplicação industrial ou de outra natureza.

5. ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

O estado da técnica

A extração de componentes insaponificáveis das diversas fontes de lipídios tem um elevado valor agregado em diversos segmentos, em aspectos nutricionais e funcionais. Isso faz com que vários estudos se direcionem na expectativa da utilização de coprodutos agroindustriais para obtenção de novos produtos, principalmente com o foco em uma economia circular e mais sustentável.

Para subsidiar o desenvolvimento da presente invenção fez-se a busca de anterioridade nas bases de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil

(INPI), no European Patent Office (EPO), no United States Patent and Trademark Office (USPTO) e na World Intellectual Property Organization (WIPO), utilizando os descritores: insaponificável (unsaponifiable), *Mauritia flexuosa* e processo (process), observado o surgimento dos mesmos no título, resumo e/ou texto completo. O objetivo da busca foi realizar um levantamento de possíveis processos de extração de frações insaponificáveis em produtos ou coprodutos derivados do buriti (*Mauritia flexuosa*), e por esse motivo os três descritores foram combinados entre si.

No documento da patente PI 0002359-0 A (Rohr, R.; Trujillo-Quijano, J.A. **Processo de extração e concentração de vitaminas e pró vitaminas lipossolúveis, fatores de crescimento e hormônios vegetais e animais, presentes nos resíduos e subprodutos das indústrias de produtos vegetais e animais.** PI0002359-0 A. 2000). A invenção se refere ao processo de extração e concentração de substâncias insaponificáveis, contendo vitaminas e pró vitaminas lipossolúveis. fatores de crescimentos e homônimos vegetais e animais a partir de resíduos da industrialização de produtos de origem vegetal ou animal, sem a utilização de solventes e com o objetivo de obter a separação desses "produtos visados" por destilação e alto vácuo, e a produção de ácidos graxos e outros ácidos orgânicos de alta qualidade.

Em 2003, o mesmo depositante da patente supracitada, agora por meio da patente nº PI0106522-0 A (Rohr R. **Processo para separar produtos valiosos insaponificáveis obtidos de matérias primas diversas** PI0106522-0 A. 2003). A invenção se refere ao processo para separar fitoquímicos valiosos, existentes nos materiais insaponificáveis, de qualquer matriz ou matérias primas.

A patente nº US 2012209018 A1 (Poitou-Charentes, V.C.R. **Método de extração de insaponificáveis de matérias-primas renováveis.** US2012209018A1. 2012) descreve método generalista para extrair fração insaponificável de matéria-prima renovável como frutas oleaginosas, sementes, cascas de sementes, amêndoas produtoras de óleo, brotos, caroços e cutículas de frutas, matérias-primas com alto teor de gordura de animais, algas, fungos ou levedura.

Na patente nº BR 1020120233983 A2 (Cazzolato, S.A.; Silva, M.M..S; Nishiyama, H. **Processo de segregação e purificação dos componentes do óleo vegetal destilado "VOD", obtido da desodorização de óleo vegetal refinado.** BR 1020120233983 A2. 2014) trata da segregação e purificação dos componentes do Óleo Vegetal Destilado "VOD", que são também insaponificáveis, obtido da desodorização de óleo vegetal refinado. Em 2015 foi publicada a patente nº PI 0107605-1 81 a qual descreve o processo

de extração da fração insaponificável contida em um óleo vegetal ou um coproduto da indústria de refino dos óleos vegetais, advindos da etapa de desodorização, como forma de aproveitamento de resíduos agroindustriais. Nesta patente foram utilizadas óleo de abacate e óleo de soja, obtendo no final dos processos vários fitoquímicos, sendo eles esteróis, tocotrienos, escualeno, hidroxicarbonetos, compostos furânicos e álcoois graxos polihidratados.

Na patente nº BR 102018074782-7 A2 (Cunha, F.A.L. **Processo de obtenção de matéria-prima para produção de tocoferóis, fitoesteróis, esqualeno, carotenóides e tocotrienos** BR 102018074782-7 A2. 2020). A invenção se refere ao processo de obtenção de tocoferóis, fitoesteróis, carotenóides, tocotrienóis e esqualeno, compostos esses insaponificáveis, a partir da produção do biodiesel, tendo com etapa o processo de saponificação. A patente nº BR 102015029422-0 B1 (Souza, D.F. Carvalho, P.R.N. **Extração e separação de componentes insaponificáveis de sementes de urucum**. BR 102015029422-0 B1. 2022). A invenção se refere ao processo de extração dos componentes insaponificáveis, a partir das sementes de urucum (*Bixa Orellana* L.), usando metodologia específica para esta espécie.

De acordo como as buscas literárias realizadas e sumariamente descritas acima ficou comprovado que não existem relatos antecipando a proposta da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica, que consiste na obtenção e identificação as moléculas biologicamente ativa da fração insaponificável a partir do epicarpo da espécie *Mauritia flexuosa*. O potencial nutricional e farmacológico da fração foi avaliado por meio de ensaio *in vitro* identificando como principais constituintes ativos: Ácido cis-Vaccénico; γ -Tocopherol; Isômero do γ -Tocopherol; 1-Heptacosanol; α -Tocopherol; Ergosterol; Stigmasterol; 1-Octacosanol; β -Sitosterol; Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, Olean-12-en-3-ol, Lupeol; 9,19-Ciclolanost-24-en-3-ol. Sendo o propósito da invenção contribuir para ampliar o conhecimento da espécie, aproveitamento integral do fruto de maneira sustentável, assim como sua finalidade e viabilidade econômica. Para além dos processos de produção da fração insaponificável, a presente invenção refere-se a identificação para posterior aplicação das moléculas biologicamente ativas em composição ou formulações de suplemento alimentar, biofármacos e/ou farmacológicas, cosmética, destinados ao uso em humanos e animais.

Exemplifique empresas que poderiam ter interesse em distribuir esta nova tecnologia.

1. Indústria alimentícia

2. Indústria farmacêutica
3. Indústria de cosméticos

Declaro que todas as informações acima descritas e anexadas a este formulário são verdadeiras e, assim como os demais inventores, relacionados em documento anexo, me comprometo pelo sigilo e confidencialidade das mesmas.

DATA: 22/05/2024

Stella Regina Arcanjo Medeiros

Observações

1. Todos os inventores relacionados à presente invenção se responsabilizam, mediante a legislação vigente, pela segurança das informações descritas neste Relatório de Invenção.
2. **ESTE RELATÓRIO NÃO PODERÁ SER ALTERADO, OU SEJA, NENHUM DOS ITENS PODERÁ SER EXCLUÍDO. CASO O INVENTO NÃO SE APLIQUE A ALGUM ITEM, DEIXAR EM BRANCO.**
3. Este “Relatório de Invenção” será recebido e protocolado no NINTEC somente mediante a ciência e assinatura do chefe de departamento ou do coordenador de pós-graduação e de cada um dos inventores se responsabilizando pelo percentual de participação no desenvolvimento da tecnologia, sendo anexado a este o formulário “Anexo – Dados dos Inventores” devidamente preenchido.
4. Todo o Relatório de Invenção deve ser preenchido eletronicamente. Assim, não será admitido qualquer rasura ou correção a caneta ou lápis.
5. O NINTEC terá até 30 dias úteis para dar um parecer favorável ou não à solicitação, contados a partir do protocolo do presente relatório e mais 60 dias úteis para depósito do pedido, contados da aprovação da solicitação pelo COMPITEC (Conselho de Propriedade Intelectual e Transferência de Tecnologia do NINTEC/UFPI).

RELATÓRIO DESCRITIVO

PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA*) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLÓGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

[001] O processo de obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica do epicarpo do buriti, rica em ésteres, terpenóides, fitosteróis, tocoferóis, álcoois, ácidos graxos e entre outros compostos insaponificáveis, caracterizado pelo fato de compreender as etapas sucessivas seguintes: separação do epicarpo do fruto; secagem a 50°C em estufa à vácuo por 72 h; obtenção do pó (1 kg) por trituração e extração por maceração a frio, utilizando-se hexano (2 L) por 72 h; obtenção do extrato hexânico por concentração em rotoevaporador; obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica a qual foi submetida à saponificação seguida de reação de metilação.

[002] A presente invenção diz respeito ao processo de extração, saponificação e obtenção de da fração insaponificável a partir da molécula lipídica epicarpo do buriti (FIEB) (*Mauritia flexuosa*) e identificação das moléculas biologicamente ativas. A principal inovação reside no desenvolvimento do processo voltado especificamente para a obtenção da fração insaponificável derivada do epicarpo de buriti, um coproduto agroindustrial de potencial aplicação biotecnológica em virtude da presença de compostos fitoquímicos. Este método visa a obtenção da fração insaponificável de um coproduto do fruto da *Mauritia flexuosa*, bem como a identificação dos compostos bioativos dessa fração, para ampla aplicação na indústria biotecnológica devido às suas propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras, que são aplicáveis tanto para consumo humano quanto animal.

[003] O buritizeiro (*Mauritia flexuosa*) é uma palmeira da família *Arecaceae*. Pertencem a esta família, algumas plantas muito conhecidas, como o coqueiro e a tamareira, abrangendo cerca de 240 gêneros e 2.600 espécies distribuídas nas subfamílias *Calamoideae*, *Nypoideae*, *Coryphoideae*, *Ceroxyloideae* e *Arecoideae*, distribuídas pelo mundo, mas concentradas em regiões tropicais e subtropicais (DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J. HARLEY, M. M.; LEWIS C. E. A New Phylogenetic Classification of the Palm Family, *Arecaceae*. **Kew Bulletin**, v. 60, p. 559-569, 2005). A *Mauritia flexuosa* apresenta ampla distribuição geográfica na América do

Sul, em áreas alagadas no Nordeste do Brasil (nos limites da Caatinga) e no Cerrado do Brasil Central, conhecidas por veredas ou buritizais (CANUDO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade antirradical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 1196-1205, 2010).

[004] Essas palmeiras são caracterizadas por serem altas, dioicas, quando adultas, com até 30 m e caule de 20-50 cm de diâmetro, solitário e liso (MARTINS et al., 2010). Os frutos são castanho-avermelhados, oblongo-globosos, medindo entre 4-5 cm e possuem o epicarpo ou casca, que são escamas sobrepostas de cerca de 6 mm, mesocarpo carnoso, além de endocarpo, que possui baixa densidade e grande quantidade de fibras. As sementes (ou endosperma) do fruto são revestidas pelo endocarpo e podem ser classificadas como recalcitrantes, em virtude de sua dureza. Elas ocupam a maior parte do volume do fruto, com 4,86 g de massa e 57% de umidade (LORENZI et al., 2004; MARTINS et al., 2010).

[005] O buriti (*Mauritia flexuosa*) é um fruto de aspectos fitoquímicos e etnofarmacológicos importantes de amplo uso popular que nos últimos anos tem sido alvo de muitas pesquisas científicas, considerando suas características funcionais e diversas atividades biológicas comprovadas, incluindo importantes propriedades nutricionais e biológicas, como atividade antioxidante (PEREIRA-FREIRE, J.A. et al. Nutritional, physicochemical and structural parameters of *Mauritia flexuosa* fruits and by-products for biotechnological exploration of sustainable goods. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 155-165, 2022) e anti-inflamatórias (AMORIM, V. R. et al. Anti-inflammatory mechanisms of fruits and by-products from *Mauritia flexuosa*, an exotic plant with functional benefits. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 84, n. 11, p. 441-457, 2021), despertando interesse nas indústrias de alimentos, farmacológicas e no campo científico-tecnológico da nanotecnologia.

[006] O buriti é um fruto de sabor e aroma fortes e característicos, é rico em compostos bioativos e lipídios, e a sua utilização de forma integral propicia redução dos impactos ambientais e proporciona a utilização dos coprodutos em diversas áreas da indústria. É importante ressaltar que o epicarpo do buriti, é um coproduto da agroindústria de alimentos que possui resultados expressivos de ácidos graxos, além de fitoesteróis e minerais já referenciados na literatura científica (PEREIRA-FREIRE, J.A. et al. Nutritional, physicochemical and structural parameters of *Mauritia flexuosa* fruits and by-products for biotechnological exploration of sustainable goods. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 155-165, 2022).

[007] Os nutrientes do buriti podem ser usados para prevenir doenças neurodegenerativas e é uma excelente fonte de compostos bioativos com propriedade antioxidante, hipolipemiante, protetor solar, antiplaquetário, antitrombótico, hipoglicêmico, antimicrobiano e antitumorais (FREIRE, J.A. **Caracterização Nutricional, Potencial Quimiopreventivo e Toxicidade de *Mauritia flexuosa* (Buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais**. 2018. Tese de Doutorado). Com base nessas informações pode-se identificar e estudar a composição nutricional de partes do buriti, usualmente descartadas, como o epicarpo, e assim direcionar melhor o seu uso em aplicações tecnológicas.

[008] O epicarpo do buriti possui uma elevada concentração de ácidos graxos monoinsaturados (68,2%) em especial para o ácido oleico, com 67,4% da matriz seca, evidenciando também a presença de ácidos graxos poli-insaturados, com uma concentração de 2,1% de ácido linoleico. Outro ponto importante a ser destacado é a presença de fitoesteróis no epicarpo do buriti, sendo a única parte do fruto que evidenciou quantidades deste grupo bioativo, com predominância para o β -sitosterol (1,4%) (FREIRE, J.A. **Caracterização Nutricional, Potencial Quimiopreventivo e Toxicidade de *Mauritia flexuosa* (Buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais**. 2018. Tese de Doutorado).

[009] Os fitoesteróis compreendem a maior parte da fração insaponificável da maioria dos óleos e gorduras comestíveis e as frações majoritárias são β -sitosterol, campesterol e estigmasterol (LEONG, W.F. et al. Optimization of processing parameters for the preparation of phytosterol microemulsions by the solvent displacement method. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8426-8433, 2009; IZADI, Z.; NASIRPOUR, A.GAROUSI, G. Optimization of phytosterols dispersion in an oil/water emulsion using mixture design approach. **Journal of dispersion science and technology**, v. 33, n. 12, p. 1715-1722, 2012).

[0010] De modo geral, os compostos insaponificáveis constituem a fração lipídica que, após ação prolongada de uma base alcalina (saponificação), permanece insolúvel na água e pode ser extraída por um solvente orgânico (SALDANHA, T. et al. HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4107-4113, 2006). A composição da fração insaponificável possui ampla natureza química: esteróis, álcoois triterpênicos, hidrocarbonetos, ácidos graxos livres e outras substâncias biologicamente ativas, que determinam a ação nutricional e ou farmacológica da fração

(GORIAINOV, S.V., ESPARZA, C.A., BORISOVA, A.R. *et al.* Phytochemical Study of the Composition of the Unsaponifiable Fraction of Various Vegetable Oils by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. **J Anal Chem** 76, 1635–1644, 2021).

[0011] As plantas possuem diversas propriedades biofarmacológicas, fitoquímicas e a escolha do método extrativo mais adequado que mantenha os metabólitos ativos e estáveis nas suas formas terapêuticas se torna um tema de extrema importância, visto que a maneira como ocorre essa extração dos constituintes químicos da planta irá influenciar o potencial farmacológico e a sua composição (CARVALHO, T.F. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro do extrato seco de *Hyptis pectinata* (L.) poit.** 2019).

[0012] A extração de componentes insaponificáveis das diversas fontes de lipídios tem um elevado valor agregado em diversos segmentos, em aspectos nutricionais e funcionais. Isso faz com que vários estudos se direcionem na expectativa de desenvolver ou aperfeiçoar processos de extração eficientes.

[0013] Para subsidiar o desenvolvimento da presente invenção fez-se a busca de anterioridade nas bases de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI), no European Patent Office (EPO), no United States Patent and Trademark Office (USPTO) e na World Intellectual Property Organization (WIPO), utilizando os descritores: insaponificável (unsaponifiable), *Mauritia flexuosa* e processo (process), observado o surgimento dos mesmos no título, resumo e/ou texto completo. O objetivo da busca foi realizar um levantamento de possíveis processos de extração de frações insaponificáveis em produtos ou coprodutos derivados do buriti (*Mauritia flexuosa*), e por esse motivo os três descritores foram combinados entre si.

[0014] No documento da patente PI 0002359-0 A (Rohr, R.; Trujillo-Quijano, J.A. **Processo de extração e concentração de vitaminas e pró vitaminas lipossolúveis, fatores de crescimento e hormônios vegetais e animais, presentes nos resíduos e subprodutos das indústrias de produtos vegetais e animais.** PI0002359-0 A. 2000). A invenção se refere ao processo de extração e concentração de substâncias insaponificáveis, contendo vitaminas e pró vitaminas lipossolúveis. fatores de crescimentos e homônimos vegetais e animais a partir de resíduos da industrialização de produtos de origem vegetal ou animal, sem a utilização de solventes e com o objetivo de obter a separação desses "produtos visados" por destilação e alto vácuo, e a produção de ácidos graxos e outros ácidos orgânicos de alta qualidade.

[0015] Em 2003, o mesmo depositante da patente supracitada, agora por meio da patente nº PI0106522-0 A (Rohr R. **Processo para separar produtos valiosos insaponificáveis**

obtidos de matérias primas diversas PI0106522-0 A. 2003). A invenção se refere ao processo para separar fitoquímicos valiosos, existentes nos materiais insaponificáveis, de qualquer matriz ou matérias primas.

[0016] A patente nº US 2012209018 A1 (Poitou-Charentes, V.C.R. **Método de extração de insaponificáveis de matérias-primas renováveis**. US2012209018A1. 2012) descreve método generalista para extrair fração insaponificável de matéria-prima renovável como frutas oleaginosas, sementes, cascas de sementes, amêndoas produtoras de óleo, brotos, caroços e cutículas de frutas, matérias-primas com alto teor de gordura de animais, algas, fungos ou levedura.

[0017] Na patente nº BR 1020120233983 A2 (Cazzolato, S.A.; Silva, M.M..S; Nishiana, H. **Processo de segregação e purificação dos componentes do óleo vegetal destilado "VOD", obtido da desodorização de óleo vegetal refinado**. BR 1020120233983 A2. 2014) trata da segregação e purificação dos componentes do Óleo Vegetal Destilado "VOD", que são também insaponificáveis, obtido da desodorização de óleo vegetal refinado. Em 2015 foi publicada a patente nº Pl 0107605-1 81 a qual descreve o processo de extração da fração insaponificável contida em um óleo vegetal ou um coproduto da indústria de refino dos óleos vegetais, advindos da etapa de desodorização, como forma de aproveitamento de resíduos agroindustriais. Nesta patente foram utilizadas óleo de abacate e óleo de soja, obtendo no final dos processos vários fitoquímicos, sendo eles esteróis, tocotrienos, escateno, hidroxicarbonetos, compostos furânicos e álcoois graxos polihidratados.

[0018] Na patente nº BR 102018074782-7 A2 (Cunha, F.A.L. **Processo de obtenção de matéria-prima para produção de tocoferóis, fitoesteróis, esqualeno, carotenóides e tocotrienos** BR 102018074782-7 A2. 2020). A invenção se refere ao processo de obtenção de tocoferóis, fitoesteróis, carotenóides, tocotrienóis e esqualeno, compostos esses insaponificáveis, a partir da produção do biodiesel, tendo com etapa o processo de saponificação. A patente nº BR 102015029422-0 B1 (Souza, D.F. Carvalho, P.R.N. **Extração e separação de componentes insaponificáveis de sementes de urucum**. BR 102015029422-0 B1. 2022). A invenção se refere ao processo de extração dos componentes insaponificáveis, a partir das sementes de urucum (*Bixa Orellana* L.), usando metodologia específica para esta espécie.

[0019] De acordo como as buscas literárias realizadas e sumariamente descritas acima ficou comprovado que não existem relatos antecipando a proposta da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado

da técnica, que consiste na obtenção e identificação as moléculas biologicamente ativa da fração insaponificável a partir da molécula lipídica do epicarpo da espécie *Mauritia flexuosa*. O potencial nutricional e farmacológico da fração foi avaliado por meio de ensaio *in vitro* identificando como principais constituintes ativos: Ácido cis-Vaccénico; γ -Tocopherol; Isômero do γ -Tocopherol; 1-Heptacosanol; α -Tocopherol; Ergosterol; Stigmasterol; 1-Octacosanol; β -Sitosterol; Stigmasta-5,24(28) -dien-3-ol, Olean-12-en-3-ol, Lupeol; 9,19-Ciclolanol-24-en-3-ol. Sendo o propósito da invenção contribuir para ampliar o conhecimento da espécie, aproveitamento integral do fruto de maneira sustentável, assim como sua finalidade e viabilidade econômica. Para além dos processos de produção da fração insaponificável, a presente invenção refere-se a identificação para posterior aplicação das moléculas biologicamente ativas em composição ou formulações de suplemento alimentar, biofármacos e/ou farmacológicas, cosmética, destinados ao uso em humanos e animais.

[0020] A principal inovação reside no desenvolvimento do processo voltado especificamente para a obtenção da fração insaponificável e identificação das moléculas biológicas ativas tais como: rica em tocoferóis, esteróis e fitoesteróis, terpenos e terpenóides, derivada do epicarpo de buriti, um coproduto agroindustrial de potencial aplicação. Este método visa a extração dos compostos bioativos presentes nesta fração com ampla aplicação na indústria biotecnológica devido às suas propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras, que são aplicáveis tanto para consumo humano quanto animal.

[0021] Importante destacar que a aplicação de coprodutos como o epicarpo, são essenciais para ampliar investigações científicas e a exploração de novos produtos sustentáveis que proporcionem finalidades e aplicações científicas e mercadológicas mais amplas que gerem, inclusive, rendimento e segurança alimentar para as comunidades locais e regionais.

[0022] Para o desenvolvimento da invenção teve-se como base os frutos de buriti (*Mauritia flexuosa*) para a produção dos extratos, os quais foram coletados na cidade de Água Branca, estado do Piauí, latitude 5° 54'S; longitude 42°38'W, no mês de dezembro de 2014. Os exemplares foram incorporados ao acervo do Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob o número de exsicata 30567.

[0023] Para obter a fração insaponificável (Figura 1), o epicarpo foi separado do fruto, seco a 50°C em estufa à vácuo (SL 104/30 Solab®) por 72 h, transformado em pó (1 kg) por trituração e submetidos à extração por maceração a frio, utilizando-se hexano (2 L) como

solvente durante 72 h. O solvente foi removido sob vácuo em rotoevaporador (Fisatom® 802), obtendo-se, assim, o extrato bruto hexânico do epicarpo do buriti. O rendimento total do extrato hexânico de *Mauritia flexuosa* foi de 2,5%. Após a evaporação do solvente, o extrato hexânico foi submetido à saponificação seguida de reação de metilação de acordo com metodologia descrita por Hartman & Lago (1973) (Hartman, L., & Lago, R. C. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory practice**, 22 (6), 475-476, 1973), com adaptações e a fração foi submetida a análise em CG-MS. O rendimento total da fração insaponificável de *Mauritia flexuosa* foi de 11,0% em relação ao extrato hexânico.

[0024] **Figura 1.** Resumo gráfico da obtenção da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*).

[0025] Para a presente invenção, obteve-se os perfis cromatográficos por meio de análise em cromatografia gasosa acoplado a espectrofotometria de massas (CG-MS) para identificação, quantificação e similaridade dos principais constituintes da fração do epicarpo do buriti. Os principais constituintes foram identificados por interpretação do padrão de fragmentação dos respectivos espectros de massas (Figura 2 e Figura 3), comparação com dados da biblioteca Nist08 e com dados da literatura (ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. **Gruver, TX USA: Texensis Publishing**, 2017). A quantificação foi realizada, usando curva de calibração externa, usando o colesterol como padrão de síntese (Figura 4).

[0026] **Figura 2.** Cromatograma de Íons Totais (TIC), com destaque para o majoritário, β -Sitosterol (18).

[0027] **Figura 3.** Cromatograma de Íons Monitorados (MIC) m/z 213, característicos de fitosteróis e m/z 218, característico de alguns terpenos.

[0028] **Figura 4.** Curva de calibração com o colesterol como padrão de síntese.

[0029] A curva foi construída usando o padrão de Colesterol (Sigma-Aldrich, 98%) diluído em hexano, nas concentrações indicadas na Tabela 1 e a partir da equação da reta. Assim foi possível calcular as concentrações dos principais componentes identificados na amostra (Quadro 1). De modo que, os resultados aqui apresentados, foram analisados em triplicata, utilizando método sensível e específico e foi possível otimizar o processo de obtenção das moléculas biologicamente ativas da fração insaponificável, que mostra a relevância da presente invenção.

[0030] **Tabela 1.** Concentrações de padrão de Colesterol (Sigma-Aldrich, 98%) diluído em

hexano, utilizadas para construção da curva de calibração.

Concentração (µg/mL)	Área do sinal
20	17327
30	30416
50	64733
70	99898
80	119401
90	132458

µg/mL: micrograma por mililitro.

[0031] **Quadro 1.** Identificação, quantificação e similaridade dos principais compostos via CG-EM na fração insaponificável do epicarpo do buriti.

SINAL	NOME	Fórmula Molecular	MM (g/mol)	Massa*
1	2(4H)-Benzofuranona	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180,2	22,08
2	2-Pentadecanona	C ₁₅ H ₃₀ O	226,40	6,94
3	Acetato de farnesil	C ₁₈ H ₃₀ O	262,4	4,86
4	Ácido Hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256,42	3,06
5	1-Hexadecanol	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ OH	242,44	3,35
6	Fitol	C ₂₀ H ₄₀ O	296,5	7,49
7	Ácido cis-Vaccenico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282,46	13,48
8	Isômero do farnesol	C ₁₅ H ₂₆ O	222,37	3,04
9	4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	324,5	5,83
10	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaeno	C ₂₄ H ₃₈	326,6	11,82
11	γ-Tocopherol	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416,7	32,84
12	Isômero do γ-Tocopherol	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416,7	11,25
13	1-Heptacosanol	C ₂₇ H ₅₆ O	396,7	20,35
14	α-Tocoferol	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430,71	30,29
15	Ergosterol	C ₂₈ H ₄₄ O	400,6	33,27
16	Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	412,69	74,23
17	1-Octacosanol	C ₂₈ H ₅₈ O	410,76	30,25
18	β-Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	414,7	405,67
19	Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	C ₂₉ H ₄₈ O	412,3	14,90
20	Olean-12-en-3-ol	C ₃₀ H ₅₀ O	426	14,43
21	Lupeol	C ₃₀ H ₅₀ O	426	16,44
22	9,19-Ciclolanost-24-en-3-ol	C ₃₀ H ₅₀ O	426	17,37

Legenda: *mg do composto/mg de insaponificáveis.

[0032] Os fenólicos totais foram quantificados de acordo com o método descrito por Singleton e Rossi (1965) (Singleton, V. L., & Rossi, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965). Resumidamente, 7,5 mg da amostra dissolvida em metanol foram misturados com o reagente Folin-Ciocalteu na proporção de 1:5. Água destilada e Na₂CO₃ (15%) foram adicionados e a absorbância foi medida a 425 nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão e o conteúdo fenólico foi expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de amostra (Tabela 2).

[0033] O método de Kefayati et al. (2017) (Kefayati, Z., Motamed, S., Shojaii, A., Noori, M., & Ghods, R. Antioxidant activity and phenolic and flavonoid contents of the extract and subfractions of *Euphorbia splendida* Mobayen. **Pharmacognosy Research**, v. 9, n.4, p. 362, 2017) foi utilizado para determinar o teor de flavonóides. Uma solução de cloreto de alumínio a 2,5% foi adicionada a seis mg da amostra. Após 30 minutos, a absorbância foi medida a 425 nm. A quercetina foi usada como padrão de calibração. Os resultados foram expressos como equivalentes de quercetina por miligrama de extrato (mgE Quer/g Extrato).

[0034] As experiências foram realizadas em triplicata e as medições de absorbância foram realizadas utilizando um leitor de microplacas (Sinergy 2, Biotek). Os resultados foram expressos como média $\pm$ DP. Após a quantificação do teor de compostos fenólicos, diferentes lotes de amostras foram padronizados quanto à porcentagem de flavonóides encontrada pela mistura de lotes com diferentes concentrações de flavonóides.

[0035] **Tabela 2.** Conteúdo de fenóis totais e de flavonoides da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*)

Compostos	Quantidade
Fenóis Totais	- 34,12 mg GAE/g de extrato $\pm$ 0,0
Flavonoides	- 0,34 mg QE/g de extrato $\pm$ 0,23

GAE/g: equivalentes ao ácido gálico por grama do extrato; QE/g: Equivalentes à quercetina por grama de extrato.

[0036] Na avaliação do potencial antioxidante direto, uma faixa de concentração da amostra (0.15, 0.3, 0.7, 1.5, 3.12, 6.25, 12.5 e 25 mg/mL) foi utilizada nos testes **DPPH e ABTS**, a fim de verificar a capacidade antioxidante e para determinar a concentração capaz de inibir 50% dos radicais livres (CI₅₀).

[0037] O método de eliminação de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi

realizado de acordo com o protocolo de Blois (1958) (Blois, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, 1958). Às soluções amostrais foram adicionados 3,9 mL de DPPH ($6,5 \times 10^5$) e a absorbância foi medida no comprimento de onda de 515 nm.

[0038] O ensaio ABTS foi realizado de acordo com Miller et al. (1993) (Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**, v.84, n.4, p. 407–412, 1993). O radical ABTS⁺ foi preparado pela reação de 5 mL da solução ABTS com 88 µL de solução de persulfato de potássio, ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16 horas. Para obter uma absorbância de 0,70 nm $\pm$ 0,05 nm a 734 nm, a solução radical foi então diluída em álcool etílico. As amostras e os padrões diluídos foram incubados com solução ABTS⁺ por 10 minutos a 37°C em banho-maria. Ao final dos 10 minutos, monitorou-se a diminuição da absorbância a 734 nm. Os testes antioxidantes foram realizados em triplicata, com quercetina e ácido gálico servindo como antioxidantes padrão para DPPH e ABTS, respectivamente. A porcentagem de inibição foi calculada pela fórmula: Atividade antioxidante (%) = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100$; onde A_0 = absorbância do controle e A_1 = absorbância da amostra (Tabela 3).

[0039] A análise de citotoxicidade foi realizada pelo método do MTT, descrito por Mossman (1983) (MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983), nas células (L929 e CT26.WT), que foram plaqueadas na concentração de 5×10^3 cél/poço/100 µL. Após 24h, as células foram submetidas ao tratamento e foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, adicionou-se 20 mL da solução de MTT (sal de tetrazolium) solubilizado em PBS estéril, e as placas foram incubadas por 4h. A absorbância foi lida após a dissolução do precipitado com 100 mL de DMSO puro em espectrofotômetro (GloMax®) de microplaca a 560 nm.

[0040] **Tabela 3.** Percentual de inibição de radicais DPPH e ABTS pela Fração Insaponificável do epicarpo do buriti.

Concentração (mg/mL)	% de inibição	
	DPPH	ABTS

50	96,8	81,3
25	94,2	67,8
12,5	78,2	55,9
6,25	32,6	40,8
3,125	20,4	33,7
1,5625	7,35	22,3
0,0	0,0	0,0
Fração Insaponificável do Epicarpo do buriti		Padrão Ácido gálico
DPPH (IC ₅₀) mg/mL	7,92	0,009
ABTS (IC ₅₀) mg/mL	8,10	0,021

IC₅₀ : Concentração inibitória capaz de sequestrar 50% dos compostos oxidantes no meio reacional.

[0041] A linhagem de sarcoma foi plaqueada na concentração de 5×10^5 céls/mL e tratada no mesmo dia com as amostras. A análise de citotoxicidade neste protocolo foi realizada por meio do ensaio Alamar Blue, após 72h de tratamento, por meio da aplicação da resazurina. A leitura do teste procedeu por análise da intensidade de fluorescência utilizando o leitor de placas (GloMax®), com excitação em 520 nm e emissão em 580-640 nm.

[0042] A fração insaponificável do epicarpo do buriti, avaliada na concentração única de 100 µg/mL, interferiu significativamente na viabilidade celular de todas as linhagens testadas ($p < 0,05$), como demonstrado na Figura 5. Os percentuais de inibição estão descritos na tabela 4.

[0043] **Figura 5.** Viabilidade de células de carcinoma de colon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos tratados por 72 h com a fração insaponificável do buriti (*Mauritia flexuosa*). Média $\pm$ E.P.M. *Test T de Student ($p < 0,05$).

[0044] **Tabela 4.** Percentual de inibição do crescimento celular da fração insaponificável do buriti avaliado em concentração única em linhagens de carcinoma de cólon, sarcoma e

AMOSTRA	% Inibição do crescimento*		
	CT26.WT	S180	L929
Veículo	0,0 $\pm$ 1,13	0,0 $\pm$ 2,88	0,0 $\pm$ 3,32
FIEB	35,88 $\pm$ 1,34	58,23 $\pm$ 6,08	84,53 $\pm$ 1,53

fibroblasto murinos após 72h de exposição.

*Percentual de inibição do crescimento celular expressos pela média $\pm$ E.P.M.

FIGURAS

Figura 1

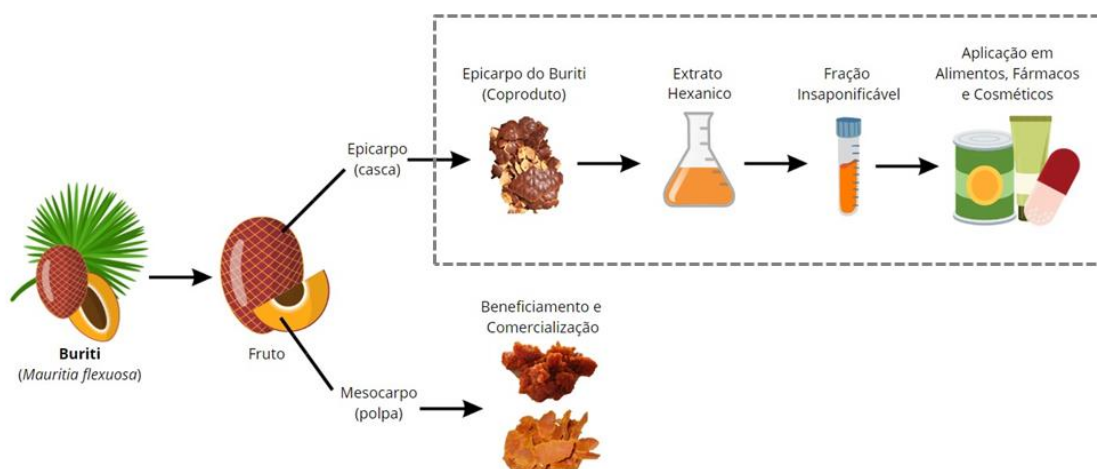


Figura 2

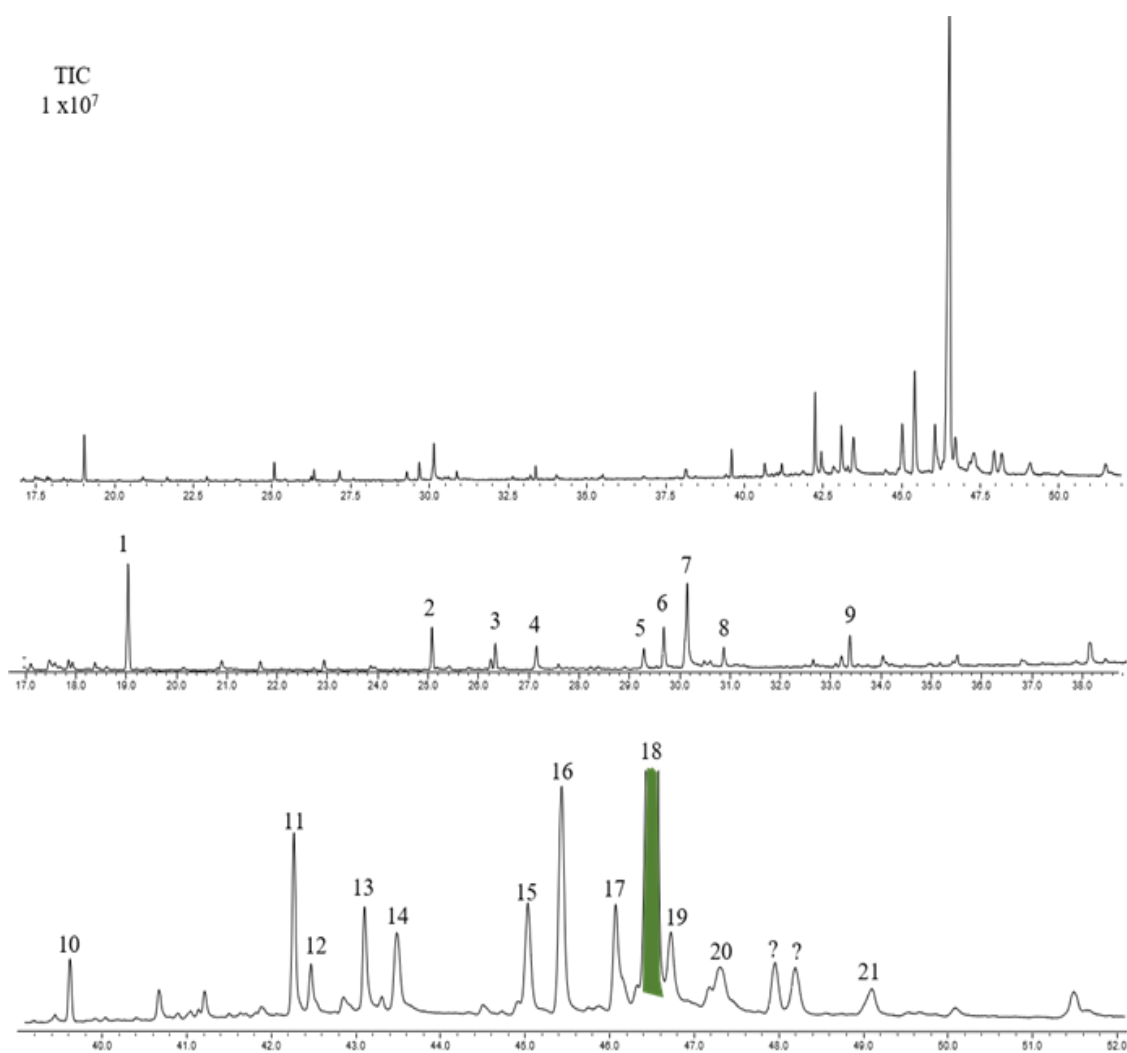


Figura 3

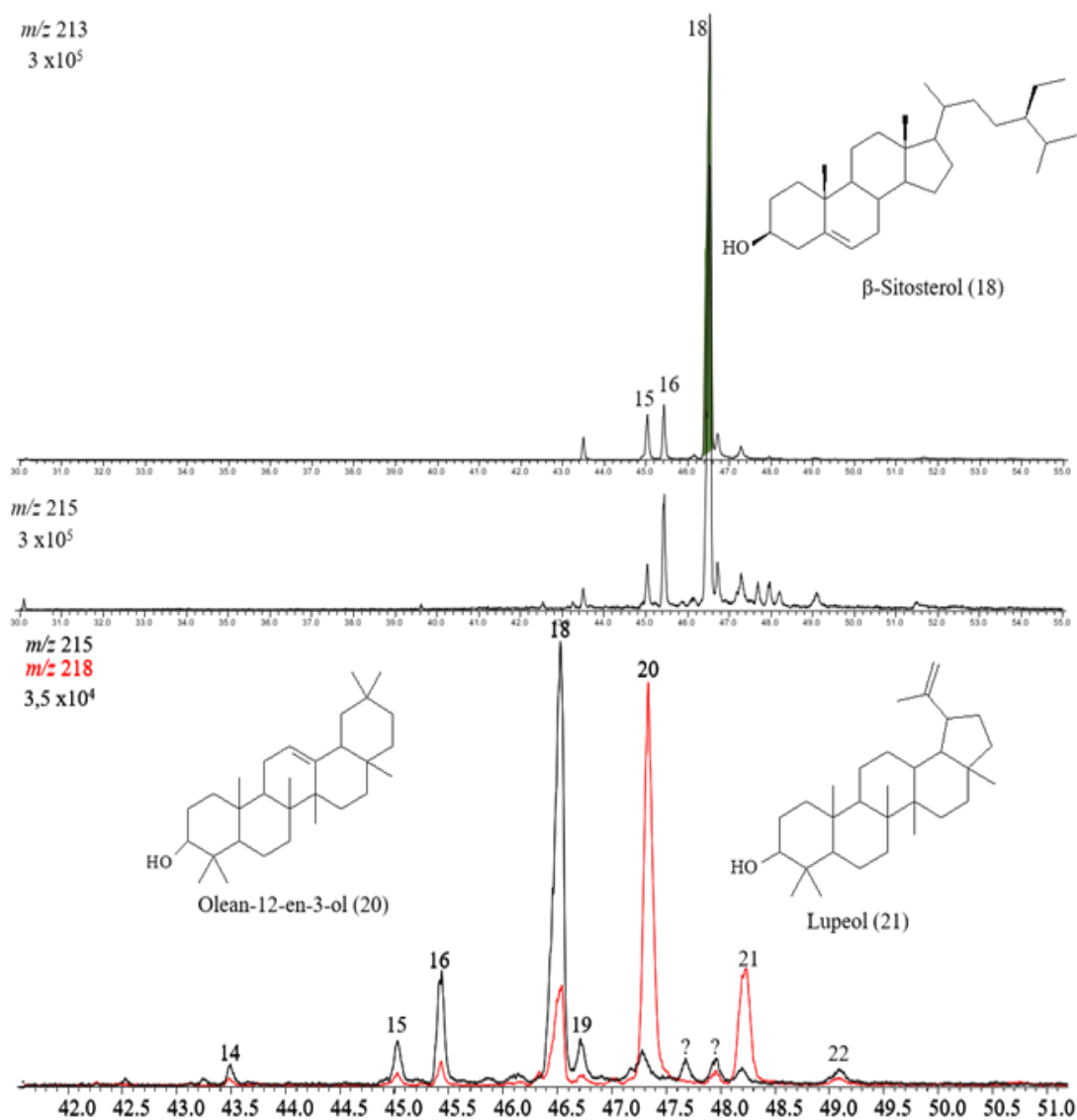


Figura 4

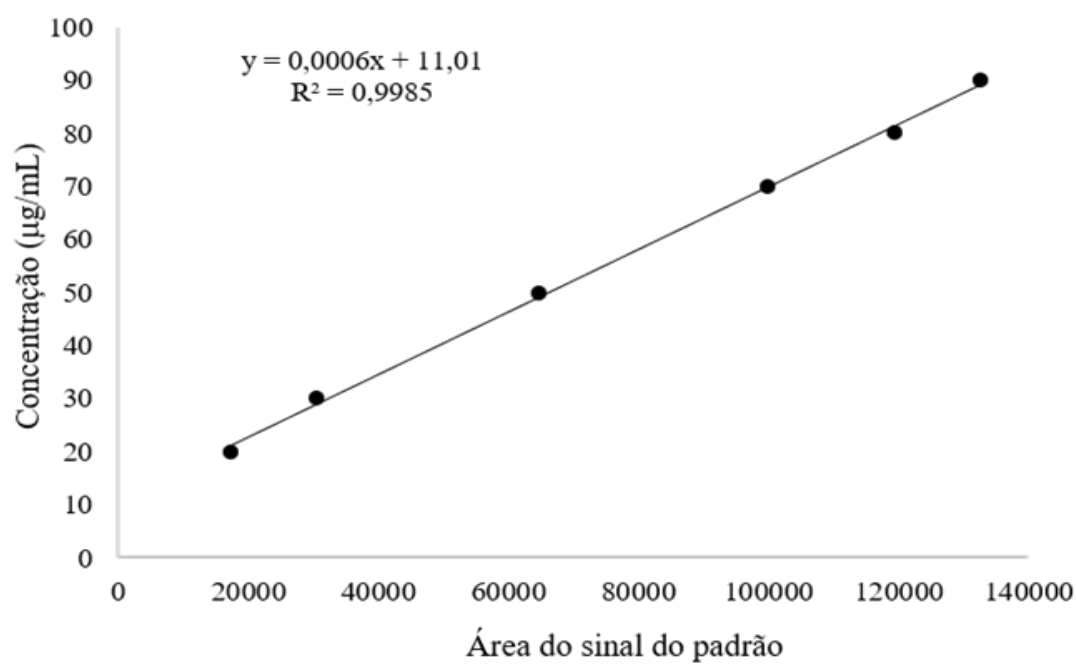
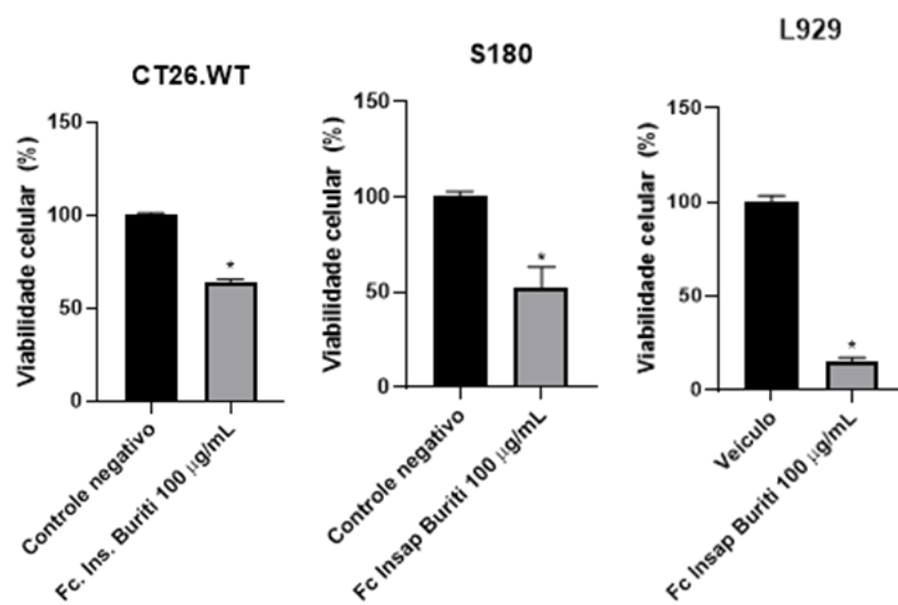


Figura 5



REIVINDICAÇÕES

PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA*) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

1. PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA*) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS **caraterizado por** obter a fração insaponificável a partir da molécula lipídica do epicarpo do buriti, rica em ésteres, terpenóides, fitosteróis, tocoferóis, álcoois, ácidos graxos e entre outros compostos insaponificáveis, caracterizado pelo fato de compreender as etapas sucessivas seguintes: separação do epicarpo do fruto; secagem a 50°C em estufa à vácuo por 72 h; obtenção do pó (1 kg) por trituração e extração por maceração a frio, utilizando-se hexano (2 L) por 72 h; obtenção do extrato hexânico por concentração em rotoevaporador; obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica a qual foi submetida à saponificação seguida de reação de metilação
2. .PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA*) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS de acordo com a reivindicação de 1 **caracterizado por** obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica do epicarpo da *Mauritia flexuosa*, contendo moléculas biologicamente ativas: β -Sitosterol; Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol; Ergosterol; Stigmasterol; γ -Tocopherol; Isômero do γ -Tocopherol; α -Tocopherol; Ácido cis-Vaccénico; 1-Heptacosanol; 1-Octacosanol; Olean-12-en-3-ol, Lupeol; 9,19-Ciclolanost-24-en-3-ol
3. PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA*) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS de acordo com a reivindicação de 1 a 2 **caracterizado por** obter a fração insaponificável, a partir da molécula lipídica do epicarpo da *Mauritia flexuosa*, e compreender, pelo menos, uma molécula biológica ativa identificada na fração insaponificável como composição cosmética, composição farmacêutica, composição química, composição alimentar e uso em nanotecnologias

4. PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (MAURITIA FLEXUOSA) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS de acordo com a reivindicação de 1 a 3, **caracterizado por** o fato dessa fração insaponificável compreender moléculas biologicamente ativas obtido por técnicas simples de maceração, que requerem tempo curto e bom rendimento, com considerável aplicação biotecnológica, podendo ser utilizada em pequenas concentrações à determinadas matrizes por exibirem propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumoral, neurocomportamental, fotoprotetora, quimiopreventiva, incluindo outras propriedades aplicáveis ao consumo e ou destinada ao uso humano e animal para uso terapêutico e/ou promoção da saúde. Sendo o propósito da invenção contribuir para ampliar o conhecimento da espécie, aproveitamento integral do fruto de maneira sustentável e viabilidade econômica

RESUMO

PROCESSO DE OBTENÇÃO DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DO BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA*) E IDENTIFICAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOLOGICAMENTE ATIVAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

A presente invenção refere-se ao processo de obtenção da Fração Insaponificável a partir do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*) - FIEB e identificação das moléculas biológicas ativas. Refere-se ao extrato hexânico e seus derivados, ao processo de obtenção do extrato e seus derivados, incluindo ativos da fração insaponificável, da espécie *Mauritia flexuosa* pertencente à família *Arecaceae* e seu emprego na composição ou formulações de medicamentos, cosméticos, suplementos e aditivos alimentares, biofármacos e droga vegetal com ação terapêutica e profilática, destinadas ao uso humano e animal e, também seu emprego na área da biotecnologia. As etapas de extração e obtenção de extrato triturado do epicarpo, coproduto do fruto da *Mauritia flexuosa*, ocorreu com solvente específico, resultando em um extrato hexânico do epicarpo do buriti, e na sequência, ocorreu a obtenção da fração insaponificável, que foi conduzida a partir da reação de saponificação utilizando uma solução hidroalcoólica de KOH (2M). Essa fração apresentou compostos biologicamente ativos obtidos do epicarpo do buriti, possui ampla aplicação na indústria biotecnológica devido às suas propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras, que são aplicáveis tanto para consumo humano quanto animal. Importante destacar que a aplicação de coprodutos como o epicarpo, são essenciais para ampliar investigações científicas e a exploração de novos produtos sustentáveis que proporcionem finalidades e aplicações científicas e mercadológicas mais amplas que gerem, inclusive, rendimento e segurança alimentar para as comunidades locais e regionais. A presente patente pertence ao setor técnico de biotecnologia de produtos naturais.

CAPÍTULO 02

ARTIGO 01: Caracterização química e potencial antioxidante do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo de *Mauritia flexuosa* L.f.

Artigo será submetido ao Periódico Food Chemistry

Qualis: A1

FI: 8,8

CitScore: 14,9

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HEXÂNICO E DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO EPICARPO DE *Mauritia flexuosa* L.f.

Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa¹, Joaquim Soares da Costa Júnior², Mariana de Moraes Sousa³, Nerilson Marques Lima⁴, Maria da Dores Alves de Oliveira⁵, Sidney Gonçalo de Lima⁶, Andrenilton Ferreira Silva⁵, Leandro Josuel da Costa Santos⁵, Joilane Alves Pereira-Freire⁷, Stella Regina Arcanjo Medeiros⁷.

¹Discente no Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - PPGAN, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil.

²Docente no curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Teresina Central, Teresina, Piauí, Brasil.

³Docente no curso de Tecnologia em Gastronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Teresina Zona Sul, Teresina, Piauí, Brasil.

⁴Docente no curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal de Goiás, Brasil.

⁵Discente no Programa de Pós-Graduação em Química - PPGQ, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil.

⁶Docente no Programa de Pós-Graduação em Química - PPGQ, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil.

⁷Docente no Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - PPGAN, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil.

Resumo

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) é uma palmeira da família Arecaceae, amplamente distribuída na América do Sul, particularmente na região amazônica e no Cerrado brasileiro, onde tem mostrado um grande potencial econômico para o desenvolvimento de biotecnologias baseadas na sustentabilidade dos recursos naturais. Na indústria alimentícia brasileira, o epicarpo e o endocarpo são frequentemente descartados ou subutilizados na produção de doces, sorvetes, sucos, geleias, mingaus e óleos. O epicarpo do buriti é um coproduto valioso do processamento do óleo, contendo um alto teor de compostos bioativos com potente aplicação na prevenção do estresse oxidativo e de doenças crônicas. Apesar de seu enorme potencial, o epicarpo ainda é subutilizado tanto na pesquisa quanto na indústria, representando uma oportunidade significativa para inovação e desenvolvimento de produtos que aliem saúde e sustentabilidade. A pesquisa objetivou extrair e caracterizar quimicamente o extrato hexânico e a fração insaponificável oriundas do epicarpo do buriti, utilizando Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). O extrato hexânico foi obtido por meio de maceração e a fração insaponificável por reação de saponificação e metilação. Os compostos foram determinados e quantificados por CG-EM. O teor de minerais foi determinado utilizando-se a metodologia de digestão por via úmida nitro-perclórica, a análise dos fluidos oriundos da simulação da digestão *in vitro* foi realizada por UHPLC-HRMS, a capacidade antioxidante foi avaliada pela inibição de radicais DPPH e ABTS e a análise por Infravermelho foi realizada pelo método de ATR. Os principais compostos identificados no extrato foram ácidos graxos

monoinsaturados da família w-9 (oleico e elaídico) e ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico), esqualeno, tocoferóis (α e β) e fitoesteróis (stigmasterol e β -sitosterol). Na análise dos líquidos colônicos os íons com maior intensidade corresponderam a ácidos graxos (m/z de 200 - 350 Da), tocoferóis e fitoesteróis (m/z em torno de 400 Da) e carotenóides ($m/z > 500$ Da). Quanto aos compostos identificados na fração verificou-se a presença predominante de fitosteróis (β -sitoesterol, ergosterol, stigmasterol e estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol), além de tocoferóis e terpenóides. Importante destacar como parte inorgânica do extrato, os minerais cálcio, ferro, manganês e cobre que alcançaram valores acima de 50% das recomendações diárias. Os resultados obtidos reforçam o valor da extração de coprodutos advindos do epicarpo de buriti com promissora aplicação em biotecnologia, bem como na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica, devido à sua riqueza de compostos e de atividades biológicas com capacidade de contribuir para a prevenção de doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo. Além disso, a identificação de novos compostos e a compreensão das sinergias entre eles podem abrir caminhos para o desenvolvimento de produtos mais eficazes e seguros.

Palavras-Chave: *Mauritia flexuosa*, epicarpo, compostos bioativos, fração insaponificável.

CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF THE HEXANIC EXTRACT AND UNSAPONIFIABLE FRACTION OF THE EPICARP OF *Mauritia flexuosa* L.f.

Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa¹, Joaquim Soares da Costa Júnior²,
Mariana de Moraes Sousa³, Nerilson Marques Lima⁴, Maria da Dores Alves de
Oliveira⁵, Sidney Gonçalo de Lima⁶, Andrenilton Ferreira Silva⁵, Leandro
Josuel da Costa Santos⁵, Joilane Alves Pereira-Freire⁷, Stella Regina Arcanjo
Medeiros⁷.

¹ Graduate student in the Food and Nutrition Graduate Program (PPGAN), Federal University of Piauí, Ministro Petrônio Portella Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

² Faculty member in the Chemistry Teaching Program at the Federal Institute of Education, Science and Technology of Piauí, Teresina Central Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

³ Faculty member in the Gastronomy Technology Program at the Federal Institute of Education, Science and Technology of Piauí, Teresina South Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

⁴ Faculty member in the Chemistry Teaching Program at the Federal University of Goiás, Brazil.

⁵ Graduate student in the Chemistry Graduate Program (PPGQ), Federal University of Piauí, Ministro Petrônio Portella Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

⁶ Faculty member in the Chemistry Graduate Program (PPGQ), Federal University of Piauí, Ministro Petrônio Portella Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

⁷ Faculty member in the Food and Nutrition Graduate Program (PPGAN), Federal University of Piauí, Ministro Petrônio Portella Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

Abstract

Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) is a palm tree from the Arecaceae family, widely distributed in South America, particularly in the Amazon region and the Brazilian Cerrado, where it has shown great economic potential for the development of biotechnologies based on the sustainability of natural resources. In the Brazilian food industry, the epicarp and endocarp are often discarded or underutilized in the production of sweets, ice creams, juices, jellies, porridge, and oils. The buriti epicarp is a valuable byproduct of oil processing, containing a high content of bioactive compounds with potent applications in preventing oxidative stress and chronic diseases. Despite its enormous potential, the epicarp remains underutilized in both research and industry, representing a significant opportunity for innovation and the development of products that combine health and sustainability. The research aimed to extract and chemically characterize the hexanic extract and the unsaponifiable fraction derived from the buriti epicarp, using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The hexanic extract was obtained through maceration, and the unsaponifiable fraction by saponification and methylation reactions. The compounds were identified and quantified by GC-MS. The mineral content was determined using the nitro-perchloric wet digestion method, and the analysis of fluids derived from in vitro digestion simulation was performed by UHPLC-HRMS. Antioxidant capacity was assessed by DPPH and ABTS radical inhibition, and Infrared analysis was conducted using the ATR method. The main compounds identified in the extract were monounsaturated fatty acids of the ω -9 family (oleic and elaidic) and saturated fatty acids (palmitic and stearic), squalene, tocopherols (α and β), and phytosterols (stigmasterol and β -sitosterol). In the analysis of colonic fluids, the ions with the highest intensity corresponded to fatty acids (m/z from 200 - 350 Da), tocopherols, and phytosterols (m/z around 400 Da), and carotenoids (m/z >

500 Da). As for the compounds identified in the fraction, there was a predominant presence of phytosterols (β -sitosterol, ergosterol, stigmasterol, and stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol), in addition to tocopherols and terpenoids. It is important to highlight the inorganic part of the extract, with minerals such as calcium, iron, manganese, and copper, which reached values above 50% of the daily recommendations. The results obtained reinforce the value of extracting byproducts from buriti epicarp with promising applications in biotechnology, as well as in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries, due to its richness in compounds and biological activities capable of contributing to the prevention of chronic diseases related to oxidative stress. Moreover, the identification of new compounds and the understanding of synergies between them may pave the way for the development of more effective and safer products.

Keywords: *Mauritia flexuosa*, epicarp, bioactive compounds, unsaponifiable fraction.

1 Introdução

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.) é uma palmeira pertence à família *Arecaceae* e ao gênero *Mauritia*, nativas dos biomas brasileiros distribuídas no Cerrado, Caatinga, Pampa e Mata Atlântica (Freitas et al., 2017; Leite et al., 2021; Aquino et al., 2023). Além disso, também pode ser encontrada em outros países da América do Sul, incluindo Bolívia, Venezuela, Peru, Colômbia, Guiana e Equador. Dessa palmeira obtém-se o fruto do buriti, produzido principalmente na agricultura familiar, que possui epicarpo com escamas romboides de coloração marrom-avermelhada, mesocarpo de tonalidade alaranjada e aroma adocicado, textura oleosa e consistência pastosa, semente globular ou semiesférica (Koolen et al., 2018; Pereira-Freire et al., 2022).

Importante ressaltar que o buriti é um fruto altamente nutritivo, com elevado teor de compostos biologicamente ativos, incluindo moléculas lipídicas, minerais como ferro, cálcio, cobre e potássio (Pereira-Freire et al., 2022) e metabólitos secundários de uma ampla gama de classes, como terpenóides, esteróides, flavonóides e antocianidinas com diferentes potenciais biológicos (Aquino et al., 2023; Amorim et al., 2021; Bataglion et al., 2020). O epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*), embora rico em compostos bioativos como antioxidantes, carotenóides, e fitoesteróis, é frequentemente tratado como resíduo e descartado durante o processamento, perdendo-se assim um recurso de grande valor. Este subproduto possui propriedades que poderiam ser amplamente exploradas na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica, onde a demanda por ingredientes naturais e sustentáveis está em constante crescimento (Rudke et al., 2019).

Esse é um coproduto importante do processamento do óleo, produção de doces e sucos, representa 26% do peso total do fruto após liofilização, contém fibras (50,5%), proteínas (4,13%), lipídios (12,3%), cinzas (2,9%), tendo sido a única parte do fruto que os autores observaram a presença de fitoesteróis (2%) (Pereira-Freire et al. 2022). Os fitoesteróis compreendem a maior parte da fração insaponificável da maioria dos óleos e gorduras comestíveis, mais de 200 fitoesteróis foram documentados devido a diferenças na substituição nas cadeias laterais de C-4 e C-24. (Garcia-Llatas et al. 2021).

Na fração insaponificável de óleos vegetais, são identificados diversos metabólitos secundários como os tocoferóis, os fitoesteróis, os carotenóides, polifenóis e triterpenos, compostos biologicamente ativos que apresentam propriedades antioxidantes (Aquino et al., 2023), imunomoduladoras (Pereira-Freire et al., 2018) e anti-inflamatórias (Amorim et al., 2021), as quais podem retardar a progressão de várias doenças degenerativas, além de oferecer vários benefícios para a saúde, dentre eles, a redução do colesterol e dos triglicerídeos (Pessoa et al., 2024; Peixoto-Araújo et al., 2021; Assmann et al., 2021).

O aproveitamento integral do fruto de buriti, incluindo a polpa e coprodutos, como epicarpo, amplia as possibilidades de aplicação dessa matéria-prima, em diversas áreas, possibilitando o desenvolvimento de áreas produtoras do fruto, além de favorecer a economia local e contribuir significativamente para a valorização do buriti com estabelecimento de mercado consumidor adequado, promovendo a sustentabilidade e inovação nas suas diversas aplicações biotecnológicas. Diante disso, este estudo objetivou caracterizar quimicamente o extrato hexânico e a fração insaponificável do epicarpo do buriti e avaliar o potencial antioxidante.

2 Metodologia

2.1 Obtenção, extração e rendimento de coprodutos do epicarpo

Os frutos analisados foram colhidos no estado do Piauí, Brasil, com Latitude: 6° 40' 6" Sul, Longitude: 41° 42' 31" Oeste. Os frutos foram selecionados considerando aparência externa, estágio fisiologicamente maduros, higienizados e posterior extração dos coprodutos do epicarpo. O epicarpo foi separado do buriti, seco a 50°C em estufa à vácuo (SL 104/30 Solab®) por 72 h, triturado e submetido à extração por maceração à frio (relação M/V foi 1:2), utilizando hexano como solvente por 72 h. O solvente foi removido em evaporador rotativo (Fisatom® 802) a vácuo, obtendo como primeiro coproduto o extrato bruto hexânico do epicarpo. Após a evaporação do solvente o extrato hexânico foi submetido à saponificação, seguida de reação de metilação de acordo com metodologia descrita por Hartman & Lago (1973) e de acordo com o processo descrito no relatório inventivo de Depósito de Pedido de Patente Nº BR 10 2024 010620 2.

O rendimento dos componentes (epicarpo seco, extrato hexânico e fração insaponificável) foi calculado e avaliado. Inicialmente o percentual de base úmida (BU) foi encontrado segundo a equação: $BU (\%) = [(PI - PF)/PI] \times 100$, onde: PI = peso inicial da amostra úmida; PF = peso final da amostra seca (Celestino, 2010).

O rendimento do extrato hexânico (EH%), obtido por maceração, foi calculado a partir da equação: $EH (\%) = Ex/Epi \times 100$, que tem como base o valor total extraído (Ex) em relação ao total de epicarpo seco inicial (Epi). O valor obtido para o rendimento da fração insaponificável (FI%), foi calculado a partir da equação: $FI (\%) = E2/E1 \times 100$, que tem como base o valor do extrato (E1) utilizado na reação e o valor de fração obtida (E2).

2.2 Análise mineral no extrato hexânico

Para determinar o teor de Ca, Mg, Na e K, utilizou-se a metodologia de digestão via úmida nitro-perclórica em bloco digestor (Silva, 1999) em que a amostra inicialmente sofreu processo de digestão por 2 horas em temperatura 200°C e adicionado solução de cloreto de estrôncio 0,3% e 3,3 ml de água destilada. Finalmente procedeu-se a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica (Termo Scientific® iCE 3000), selecionando o elemento a ser analisado no programa do equipamento.

Para calcular os valores percentuais dos minerais, utilizou-se o valor da leitura em ppm/10000. Para o percentual de fósforo, após a etapa de digestão, a amostra foi homogeneizada e adicionada água destilada, ácido de molibdato de amônia (SAMA) e vitamina C para desenvolvimento da cor. Em seguida realizou-se a leitura no espectrofotômetro em 725 nm selecionando a curva de calibração e ajustando o branco do aparelho com água destilada. Para determinar o teor de Fe, Zn, Cu e Mn, após digestão da amostra, e com o extrato transparente e límpido, procedeu-se à leitura direta no espectrofotômetro de absorção atômica selecionando o elemento a ser analisado no programa do equipamento. Os valores das concentrações foram obtidos diretamente no aparelho em ppm.

2.3 Bioacessibilidade no extrato hexânico do epicarpo de buriti

2.3.1 Simulação da digestão *in vitro*

A simulação *in vitro* da digestão gastrointestinal foi realizada em quatro estágios: efeitos orais, gástricos, duodenais e enzimáticos da microbiota do cólon (Minekus et al., 2014; Fogliano et al., 2011). As soluções eletrolíticas e simulação de fluidos salivares (SSF), gástrico (SGF) e intestinal (SIF) utilizados na análise foram preparadas seguindo o protocolo desenvolvido por Minekus et al. (2014).

2.3.2 Determinação dos compostos bioativos nos fluidos intestinais (duodenal e colônico).

As amostras, em concentrações de 500 ppm, foram analisadas por espectrometria de massas de ultra-alta resolução utilizando um equipamento Q Exactive hybrid Quadrupole-Orbitrap (Thermo Scientific- San Jose, USA) acoplado a fonte de electrospray (ESI). Foram injetadas utilizando uma bomba seringa com um fluxo de 5,0 $\mu\text{L min}^{-1}$, com a faixa de detecção de m/z 150-1500. As análises foram realizadas no modo positivo de ionização e as condições gerais de análises por ESI (+), bem como os parâmetros utilizados na aquisição dos espectros foram os seguintes: voltagem do spray 3,0 kV; temperatura do capilar 275 °C; S-lens 100; o gás auxiliar foi estabelecido em 2,0 e o sheath gás em 0 para todas as amostras. A resolução do equipamento foi definida em 140.000 (FWHM em m/z 200).

2.4 Perfil cromatográfico do extrato hexânico do epicarpo dos frutos de *Mauritia flexuosa* (buriti)

As análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu QP – 5000 com injetor automático 5000, e coluna capilar SPB – 5 (5% fenil polimetilsiloxano) Supelco de 30 m x 0,25 mm x 0,1 μm acoplado ao espectrômetro de massas quadrupolo, faixa de massas 50 a 500 Da, e base de dados NIST 62TM Library. A concentração utilizada no teste: 1 mg/mL do extrato hexânico do epicarpo do buriti (Adams, 2017).

2.5 Identificação e quantificação dos compostos bioativos da fração insaponificável do epicarpo do buriti

A análise via CG-EM foi realizada no cromatógrafo (GCMS-QP2010 SE, AOC-5000 auto injetor da SHIMADZU), seguindo as seguintes condições de análise: injetor 260°C, e temperatura inicial do forno de 50 °C, apresentando uma rampa de aquecimento 10 °C/min até 310 °C por 5 minutos, razão split de 1:10, temperatura da interface 260 °C e fonte de 260 °C, faixa de massa de 50 a 650 Da, ionização por impactos de elétrons, 70 eV. Para cromatografia dos componentes foi empregada uma coluna DB5-MS UI (Agilent), 30 m x 0,25 mm, espessura do filme interno de 0,25 μm com fase estacionária de difenil dimetilpolissiloxano e hélio como gás arraste.

O processo de identificação e quantificação dos constituintes insaponificáveis extraídos do epicarpo do buriti, via CG-EM, ocorreu por meio da comparação dos tempos de retenção e da fragmentação padrão observada nos espectros de massa obtidos, com aqueles disponíveis no banco de dados da biblioteca do *National Institute Standard and Technology* (NIST08), considerando os espectros com índice de

similaridade igual ou superior a 90%. Para a quantificação foi construída uma curva de calibração usando o padrão de Colesterol (Sigma-Aldrich, 98%) diluído em hexano, e a partir da equação da reta, foi possível calcular as concentrações dos principais componentes identificados na amostra.

2.6 Análise por Infravermelho no extrato hexânico e na fração insaponificável

Foi realizado pelo método de ATR (*Attenuated Total Reflectance*) em um Espectrômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier, modelo Agilent Carry-360, com número de varreduras igual a 64 e 8 de varredura de background. O espectrômetro opera em uma resolução de 4.000, usando um detector DTGS KBr e o espectro foi obtido na faixa de 4.000 a 650 cm^{-1}

2.7 Potencial antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável

Na avaliação do potencial antioxidante direto, faixas de concentração da amostra (0,0, 1.562, 3.125, 6.25, 12,5, 25 e 50 mg/mL) foram utilizadas nos testes DPPH e ABTS, a fim de verificar a capacidade antioxidante e para determinar a concentração capaz de inibir 50% dos radicais livres (CI_{50}).

O método de eliminação de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi realizado de acordo com o protocolo de Blois (1958). Às soluções amostrais foram adicionados 3,9 mL de DPPH ($6,5 \times 1050$) e a absorbância foi medida no comprimento de onda de 515 nm. O ensaio ABTS foi realizado de acordo com Miller et al. (1993). Os testes antioxidantes foram realizados em triplicata, com ácido gálico servindo como antioxidante padrão para DPPH e ABTS, respectivamente. A porcentagem de inibição foi calculada pela fórmula: Atividade antioxidante (%) = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100$; onde A_0 = absorbância do controle e A_1 = absorbância da amostra.

3 Resultados e Discussão

3.1 Obtenção, extração e rendimento de coprodutos do epicarpo

Existem várias frutas nativas ou cultivadas no Brasil que ainda não foram estudadas quanto ao seu potencial biotecnológico e propriedades biológicas, especialmente os coprodutos de frutos, como o investigado nessa pesquisa, proporcionando observação de rendimento, extração de novos produtos e caracterização fitoquímica.

Os rendimentos obtidos no epicarpo do buriti foi: epicarpo seco ($48,0 \% \pm 0,33$), extrato hexânico ($2,5 \% \pm 0,18$) e fração insaponificável ($11,0 \% \pm 0,21$). O percentual base úmida do epicarpo do buriti encontrado nesse estudo foi de $52,0 \% \pm 0,33$. O teor de umidade deste estudo foi inferior ao estudo de Storck et al (2013), em que o teor de umidade das cascas de várias frutas foi superior a 70%. Para as cascas de laranja, banana, manga, melão e mamão papaya, o teor de umidade foi de 74,8%, 93,9%, 80,1%, 89,8% e 89,9% respectivamente. Isso demonstra que o epicarpo do buriti, após o processo de desidratação tem um melhor rendimento e conseqüentemente um melhor aproveitamento.

Importante destacar que o teor de água nas cascas de frutas pode variar amplamente, dependendo do tipo, das características intrínsecas e das condições de armazenamento (Bramont et al., 2018). Estudos indicam que a escolha do solvente, métodos de secagem, temperatura e ação mecânica, são fatores que influenciam no

processo de extração e rendimento (Efthymiopoulos et al., 2018; Rafińska et al., 2019; Zhang et al., 2024).

3.2 Análise mineral no extrato hexânico

A Tabela 1 apresenta o resultado da análise mineral do extrato hexânico do epicarpo do buriti, com a Ingestão Dietética de Referência (DRI) calculada para um adulto saudável. O sódio, ao contrário de outros minerais, foi analisado de acordo com o seu limite superior, pois a ingestão excessiva está ligada à hipertensão. Este limite diário é de 2.000 mg segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Para os demais minerais considerou-se o Institute of Medicine (2006).

Tabela 1. Composição mineral no extrato hexânico do epicarpo do buriti em relação às recomendações dietéticas de referência para homens e mulheres entre 25-50 anos, respectivamente e o percentual de adequação alcançado.

Minerais (mg/100g)	Extrato Hexânico Média ± DP	DRI (^aRDA/^bAI)	% da Recomendação
Cálcio	561,0 ± 14,1	^a 1000	56,1
Fósforo	21,3 ± 0,5	^a 700	3,04
Magnésio	69,5 ± 3,5	^a 420/320	18,7
Potássio	151,3 ± 6,8	^b 4,7	3,22
Ferro	6,7 ± 0,04	^a 8,0/18,0	51,5
Zinco	1,3 ± 0,22	^a 11,0/8,0	13,7
Cobre	1230 ± 282,8	^a 900	136,6
Manganês	1,54 ± 0,06	^b 2,3/1,8	67,0
Sódio	275,0 ± 2,8	^c 2000	13,75

^aRDA: Ingestão Recomendada para Indivíduos e ^bAI: Ingestão Adequada, segundo Institute of Medicine, 2006. ^c: Recomendação por dia segundo OMS. D.P.: Desvio-padrão. *µg/dia

Em relação aos minerais identificados, é possível observar que alguns têm se destacado pelo considerável teor, como o cálcio, o ferro e o manganês, já que 100 g deste extrato pode oferecer 56,1%, 51,5% e 67,0% respectivamente, da RDA para adultos. Vale destacar também que o cobre superou essa recomendação (136,6%), porém, os níveis máximos toleráveis de ingestão (UL), deste mineral são de 10.000 µg por dia (Instituto de Medicina, 2006).

A literatura relata a presença de minerais na polpa do buriti, com algumas variações entre eles. No estudo de Nascimento et al. (2020), a polpa de buriti apresentou maior teor de manganês (4,69 mg/100 g), superando também o valor encontrado neste estudo, no epicarpo do buriti. Segundo Cândido e Silva (2017), em que foram estudados o buriti do Cerrado e da região Amazônica, o maior destaque ocorreu para o potássio nas duas regiões. Segundo Pereira-Freire et al. (2022) o epicarpo apresentou maior fração de fósforo (26,0 ± 0,1), ferro (19,00 ± 0,02) mg/100 g, e cobre (1,00 ± 0,01) µg/100 g, assemelhando-se aos resultados deste estudo. Essas variações podem ocorrer principalmente devido às condições de cultivo e características da região, como solo e clima, por exemplo.

3.3 Bioacessibilidade *in vitro* de compostos bioativos dos fluidos intestinais do extrato hexânico

O cromatograma do fluido duodenal obtido a partir da digestão *in vitro* do extrato hexânico do epicarpo do buriti é apresentado na Figura 1, o perfil molecular conduzido usando ESI (+) Orbitrap-MS ofereceu informações moleculares sobre a composição química dos fluidos duodenais. Os resultados da análise de espectrometria de massa de ultra-alta resolução revelaram um conjunto diversificado de moléculas de baixo peso molecular ($m/z < 400$ Da). A amostra apresentou uma complexidade de íons, sendo os mais intensos no líquido duodenal m/z 274,2740, m/z 365,1054, m/z 475,3256 e m/z 701,4939, correspondendo respectivamente a ácidos graxos (m/z de 200 - 350 Da), tocoferóis e fitoesteróis (m/z em torno de 400 Da) e carotenoides ($m/z > 500$ Da).

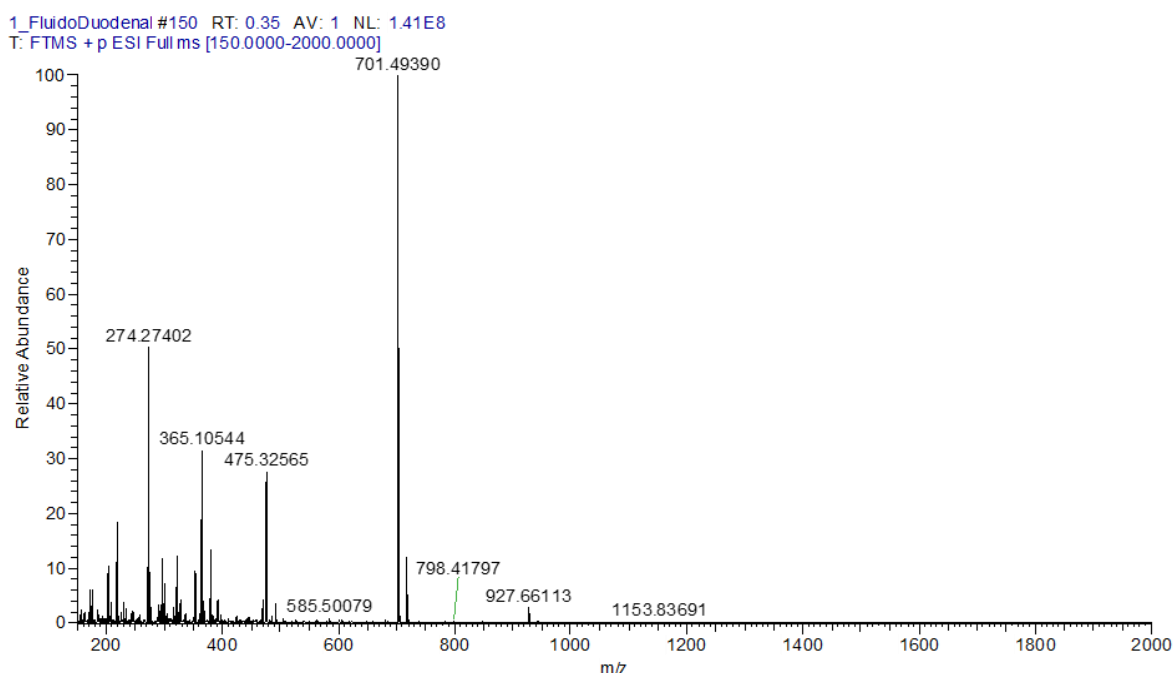


Figura 1 – Cromatograma do fluido duodenal da digestão do extrato hexânico.

O cromatograma do fluido colônico foi obtido a partir da digestão *in vitro* da fração hexânica do epicarpo do buriti, é apresentado na Figura 2. Na amostra de líquido colônico, os íons com maior intensidade foram m/z 203,0528, m/z 274,2741, m/z 296,2561, m/z 393,0834, m/z 475,3259 e m/z 701,4943, correspondendo respectivamente a ácidos graxos (m/z de 200 - 350 Da), tocoferóis e fitoesteróis (m/z em torno de 400 Da) e carotenóides ($m/z > 500$ Da).

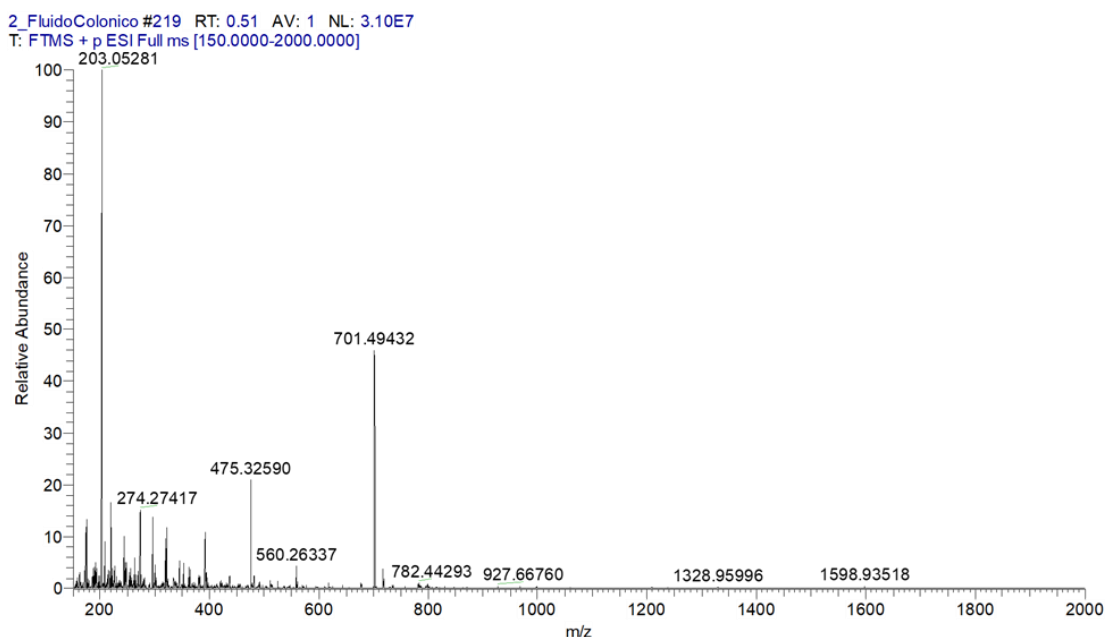


Figura 2 – Cromatograma do fluido colônico da digestão do extrato hexânico.

Os íons detectados na faixa m/z de 100 – 200 Da podem ser atribuídos à compostos fenólicos de baixa massa molecular, enquanto os compostos detectados na faixa m/z de 200 – 350 Da estão possivelmente relacionados à ácidos graxos. Os fitoesteróis mais prevalentes no reino vegetal exibem massas moleculares em torno de m/z 400 Da, que podem estar associadas aos íons detectados dentro desta faixa do espectro de massa. Os tocoferóis também podem ser detectados a aproximadamente m/z 400 Da. Por outro lado, os íons de alta massa molecular encontrados em m/z acima de 500 Da, podem ser atribuídos aos carotenoides.

Esses resultados indicam que, além do duodeno, compostos bioativos significativos do extrato hexânico do epicarpo do buriti são também liberados e presentes no fluido colônico. A presença de ácidos graxos, tocoferóis, fitoesteróis e carotenóides sugere que esses compostos mantêm sua integridade até o cólon, onde podem continuar a exercer várias funções que podem contribuir para a saúde e bem-estar. A atuação desses compostos pode variar dependendo de sua natureza química e das interações com a microbiota intestinal e células do trato gastrointestinal.

A integridade desses compostos bioativos ao chegarem ao intestino, especialmente ao cólon, é fundamental para maximizar seus benefícios à saúde. Eles atuam por meio de sua capacidade antioxidante, reduzindo significativamente o estresse oxidativo em tecidos inflamados. Essa ação melhora o índice de estresse oxidativo e torna esses compostos valiosos na prevenção e tratamento de distúrbios inflamatórios (Epure et al., 2023). O elevado consumo de alimentos ricos em compostos bioativos com propriedades antioxidantes, como vitaminas e fitoquímicos, reduz o estado pró-inflamatório, os distúrbios metabólicos e o estresse oxidativo (Santos et al., 2019; Mahnashi et al., 2022).

3.4 Perfil cromatográfico do extrato hexânico do epicarpo dos frutos de *Mauritia flexuosa* (buriti)

O perfil cromatográfico (Figura 3; Tabela 2) do extrato hexânico do epicarpo de buriti, revelou a complexidade dos compostos presentes. Observa-se a presença de

vários ácidos graxos, como o ácido palmítico, o ácido esteárico, o ácido oleico e o elaidico. Esse perfil também pode ser verificado em vários outros estudos que investigaram a composição de ácidos graxos do buriti com a presença de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), principalmente ácido oleico e ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), especialmente ácido linoleico e linolênico (Koolen et al., 2018; Pereira-Freire et al., 2022; Silva, Cavalcante e Silva, 2023).

O óleo do buriti apresenta-se rico em ácido oleico e palmítico, sendo em maior quantidade o primeiro, conforme Pereira-Freire, et al. (2022). De acordo com Freitas, et al. (2018), o óleo de buriti possui um perfil lipídico que o torna uma boa fonte de ácidos graxos monoinsaturados. Os altos teores de ácidos graxos oleicos e baixos teores linoleicos fazem com que ele seja mais resistente à oxidação do que a maioria dos óleos. Do ponto de vista da indústria alimentícia e nutricional, o ácido oleico é um dos ácidos graxos mais comuns na natureza e é considerado fundamental pelas suas propriedades benéficas na redução da oxidação do colesterol LDL (*Low-Density Lipoprotein*) (Rodrigues, Silva e Abreu, 2021).

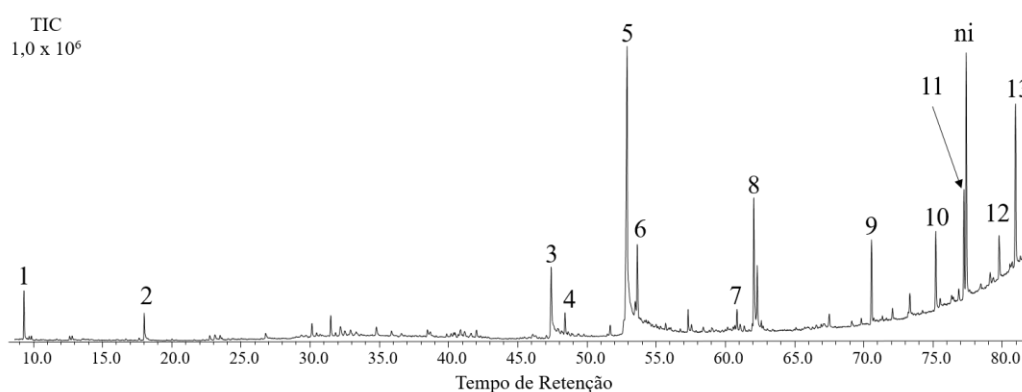


Figura 3. Perfil cromatográfico, mostrando os principais componentes presentes no extrato hexânico bruto de *Mauritia flexuosa* (Buriti). ni = não identificado.

O ácido oleico está relacionado à inibição de citocinas pró-inflamatórias e à ativação de citocinas anti-inflamatórias, além de estar relacionado a regulação da ingestão de gordura na dieta e homeostase energética, atuando como um potencial agente terapêutico para o tratamento da obesidade (Tovar et al., 2021; Santa-María et al., 2023).

Outros nutrientes identificados no extrato hexânico do epicarpo do buriti foram os α - e β - tocoferóis, além do β -sitosterol. O tocoferol apresenta ação cardioprotetora ao diminuir a infiltração de neutrófilos no tecido cardíaco, melhorando o débito cardíaco e volume sistólico (Wallert et al., 2019), possuindo também ação anti-inflamatória, com redução de espécies reativas de oxigênio e marcadores de peroxidação lipídica (Minter et al., 2020; Wallert et al., 2019). No estudo de Babu e Jayaraman (2020), foi avaliado que ao administrar beta-sitosterol em ratos diabéticos, observou-se melhora do perfil lipídico e glicídico, mostrando ação hipoglicemiante, hipolipemiante e quimiopreventivo (Minter et al., 2020; Miszczuk et al., 2024).

Tabela 2. Composição química do extrato hexânico do epicarpo do buriti analisado por CG-EM

Sinal	Constituinte	Área (%)	FM	MM g/mol	Principais fragmentos [m/z (X%)]
1	Decano	11,63	C ₁₀ H ₂₂	142	43 (100); 57 (91); 41 (39); 71 (36); 142 (M ⁺)
2	Dodecano	33,19	C ₁₄ H ₂₆ O ₃	170	57 (100); 43 (93); 71 (55); 85 (31); 170 (M ⁺)
3	n-Hexadecanoic acid (Ácido Palmítico)	3.36	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	73 (100); 43 (99); 57 (83); 129 (33) 256 (M ⁺)
4	Ácido octadecanoico (ácido Estéárico)	0.93	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	88 (100); 43 (65); 101 (90); 157 (50) 284 (M ⁺)
5	Ácido carbônico 8-heptadeceno	21.82	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	55 (100); 69 (75); 41 (63) 83 (85); 268 (M ⁺)
6	cis-9-Octadecenoic acid (Ácido oleico)	3.50	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	55 (100); 69 (80); 97 (85); 101 (43) 324 (M ⁺)
7	Trans-9-Octadecenoic acid (Ácido elaidico)	0.89	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	43 (100); 55 (80); 98 (85); 352 (M ⁺)
8	Glycidyl oleate	6.98	C ₂₁ H ₃₈ O ₃	338	129 (100); 55 (80); 69 (85); 338 (M ⁺)
9	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaeno, 2,6,10,15,19,23-hexametil (Esqualeno)	3.82	C ₃₀ H ₅₀	410	69 (100); 81 (64); 95 (23); 410 (M ⁺)
10	β-Tocopherol	3.63	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416	151 (100); 191 (50); 416 (M ⁺)
11	α-Tocopherol	5.24	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430	165 (100); 164 (50); 430 (M ⁺)
12	Estigmasta-5,22-dien-3-ol		C ₂₉ H ₄₈ O	412	55 (100); 83 (92); 159 (21) 412 (M ⁺)
13	β-Sitosterol		C ₂₉ H ₅₀ O	414	43 (100); 95 (44); 163 (85); 329 (50) 414 (M ⁺)

Sinal: Corresponde ao composto identificado e estrutura em anexo; FM: Fórmula Molecular; MM: Massa Molecular

O esqualeno (2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaeno, 2,6,10,15,19,23-hexametil) identificado no extrato hexânico, é um composto triterpenoide típico contendo seis unidades de isopreno, é um precursor para a síntese de triterpenos tricíclicos, tetracíclicos e pentacíclicos, e um intermediário para a síntese de hormônios esteroides e colesterol (Wu et al., 2022). Devido às suas seis ligações duplas não conjugadas na estrutura, o esqualeno melhora a função imunológica (Fan et al., 2023), retarda o envelhecimento da pele (Gref et al., 2023) e tem efeitos hipolipidêmicos (Herrera-Marcos et al., 2023), antioxidantes (Zhang et al., 2023), antitumorais (Rajamani et al., 2021), antibacterianos (Fang et al., 2019) e desintoxicantes (Felices et al., 2019). O corpo humano pode produzir aproximadamente 125–475 mg de esqualeno diariamente; no entanto, o conteúdo de esqualeno diminui com a idade. Portanto, a suplementação de esqualeno por meio de dietas pode ser necessária, especialmente para idosos (Gohil et al., 2019). Aproximadamente 60–85% do esqualeno dietético pode ser absorvido; portanto, o esqualeno exógeno em uma dose de aproximadamente 500 mg/dia é recomendado (Martinez-Beamonte et al., 2021).

3.5 Identificação e quantificação dos compostos bioativos da fração insaponificável do epicarpo do buriti

A Figura 4 mostra o cromatograma de íons totais (TIC) de matérias insaponificáveis presentes no epicarpo do buriti juntamente com um padrão interno (colesterol). As análises das matérias insaponificáveis revelaram 21 sinais, com destaque para o majoritário, β -sitosterol, e foram categorizados com base em suas propriedades químicas, como esteróis, tocoferóis, hidrocarbonetos, álcoois e outros. Isso permite uma compreensão mais detalhada da composição química do epicarpo do buriti e suas potenciais aplicações nutricionais e terapêuticas.

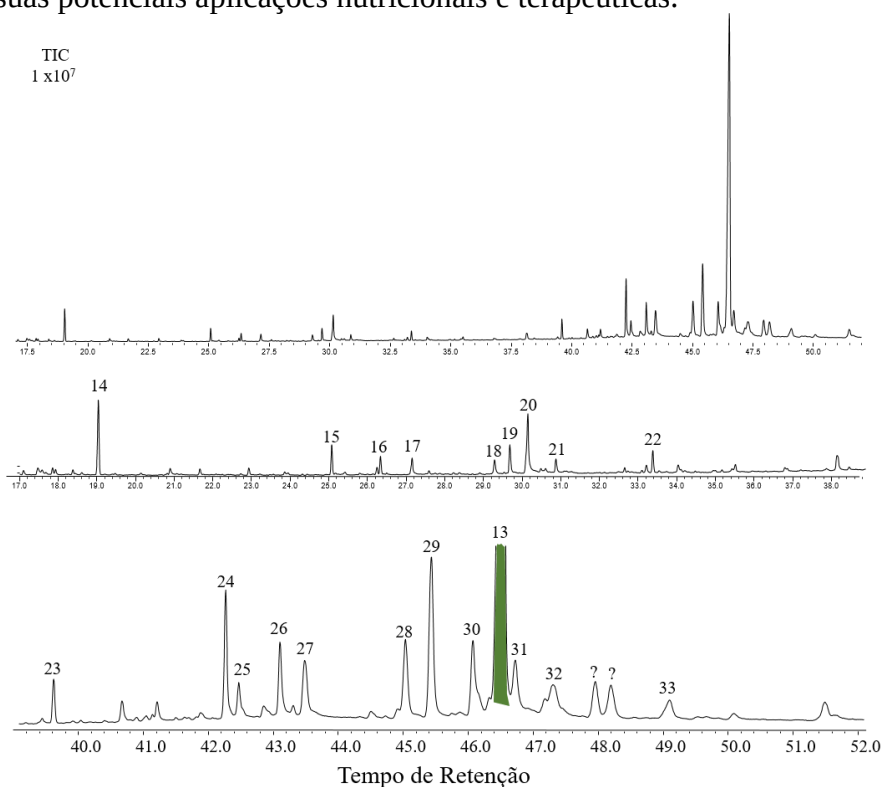


Figura 4. Cromatograma de Íons Totais (TIC) da fração insaponificável.

Na Figura 5, é possível observar a identificação de compostos a partir do Cromatograma de Íons Monitorados (MIC) m/z 213, característicos de fitosteróis e suas estruturas, bem como m/z 218, característico de alguns terpenos.

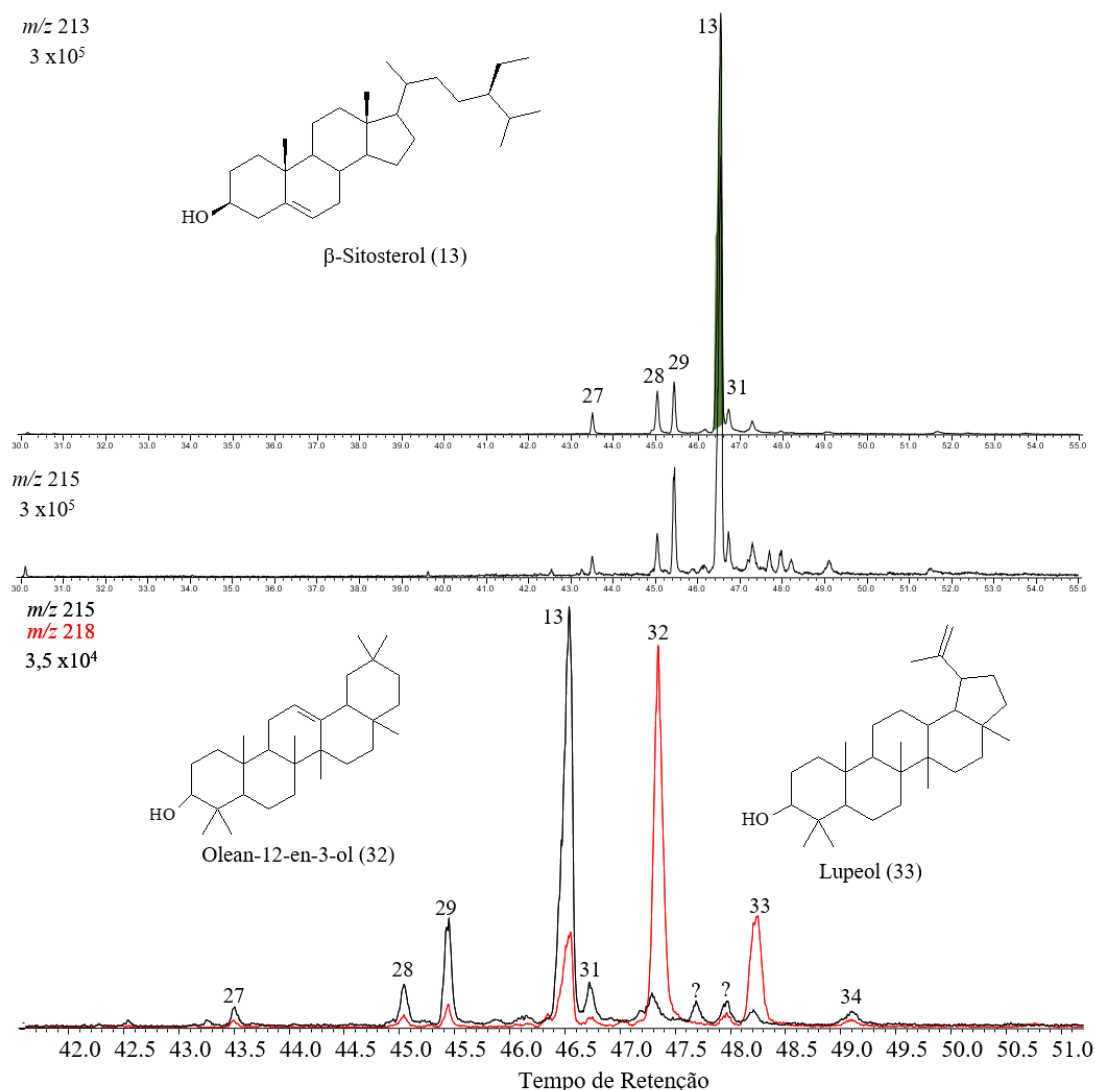


Figura 5. Cromatograma de Íons Monitorados (MIC) da fração insaponificável.

A extração, identificação e separação de componentes insaponificáveis, incluindo fitoesteróis, triterpenos, tocoferóis, ácidos graxos insaturados e ácidos graxos de cadeia longa, é um grande campo de pesquisa devido às suas aplicações potenciais na prevenção de doenças cardiovasculares e aterosclerose (Tovar et al., 2021; Caligiani, et al., 2010; Santiago et al., 2014).

A partir da quantificação dos compostos na fração insaponificável do epicarpo do buriti, foi possível constatar que os fitoesteróis são predominantes, correspondendo a 67,4% do total. E deste total de fitoesteróis, o β -sitosterol é o majoritário (76,8%) na sua categoria de esteróis vegetais, como pode ser observado na Tabela 3 e 4. Corroborando com ITO, 2007, que relata que os fitoesteróis correspondem a 30-60% da matéria insaponificável dos óleos vegetais, sendo o β -sitosterol um composto mais abundante, representando 50 a 80% do conteúdo do óleo

Tabela 3. Compostos químicos identificados e quantificados na fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*). As estruturas correspondentes estão dispostas no Anexo 1.

SINAL	Constituintes	(%)	Massa*	FM	MM	Principais fragmentos [m/z (X%)]
14	2(4H)-Benzofuranona, 5,6,7,7a-tetraidro-4,4,7a-trimetil-	2,55	22,08	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180,2	111 (100); 67 (39); 137 (37);180 (M ⁺)
15	2-Pentadecanona	0,87	6,94	C ₁₅ H ₃₀ O	226,40	58 (100); 71 (48); 65 (26);226 (M ⁺)
16	Acetato de farnesil	0,53	4,86	C ₁₈ H ₃₀ O	262,4	69 (100); 81(36); 107 (23); 262(M ⁺)
17	Ácido Hexadecanoico	0,58	3,06	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256,42	73 (100); 60 (91); 129 (34);256 (M ⁺)
18	1-Hexadecanol	0,54	3,35	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ OH	242,44	55 (100); 69 (79); 83 (87);242 (M ⁺)
19	Fitol	0,93	7,49	C ₂₀ H ₄₀ O	296,5	71 (100);57 (37);123 (18); 296 (M ⁺)
20	Ácido cis-Vaccenico	2,54	13,48	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282,46	55 (100);69 (64);83 (53);282 (M ⁺)
21	Isômero do Farnesol	0,44	3,04	C ₁₅ H ₂₆ O	222,37	69 (100);81 (45);93 (20);222 (M ⁺)
22	4,8,12,16-Tetramethyl heptadecan-4-olide	0,69	5,83	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	324,5	99 (100);57 (34); 114 (16);324 (M ⁺)
23	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaeno	1,42	11,82	C ₂₄ H ₃₈	326,6	69 (100);81 (63); 95 (15);326 (M ⁺)
24	γ.-Tocopherol	4,9	32,84	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416,7	151 (100);416 (51); 191 (33);416 (M ⁺)

25	Isômero do γ -Tocopherol	1,38	11,25	$C_{28}H_{48}O_2$	416,7	151 (100); 416 (51); 191 (33); 416 (M^+)
26	1-Heptacosanol	3,07	20,35	$C_{27}H_{56}O$	396,7	57 (100); 83 (79); 97 (77); 396 (M^+)
27	α -Tocoferol	3,05	30,29	$C_{29}H_{50}O_2$	430,71	165 (100); 430 (44); 205 (13); 430 (M^+)
28	Ergosterol	4,06	33,27	$C_{28}H_{44}O$	400,6	55 (100); 145 (65); 213 (47); 315 (34); 400 (M^+)
29	Estigmasterol	9,03	74,23	$C_{29}H_{48}O$	412,69	55 (100); 83 (71); 159 (31); 255 (23); 412 (M^+)
30	1-Octacosanol	4,63	30,25	$C_{28}H_{58}O$	410,76	57 (100); 83 (74); 97 (71); 410 (M^+)
13	β -Sitosterol	53,96	405,67	$C_{29}H_{50}O$	414,7	
31	Stigmasta-5,24(28) -dien-3-ol	1,67	14,90	$C_{29}H_{48}O$	412,3	55 (100); 229 (29); 314 (49); 414 (M^+)
32	Olean-12-en-3-ol	1,58	14,43	$C_{30}H_{50}O$	426	218 (100); 203 (56); 189 (20); 412 (M^+)
33	Lupeol	1,58	16,44	$C_{30}H_{50}O$	426	95 (100); 81 (93); 218 (); (M^+)
34	9,19-Ciclolanol-24-en-3-ol	2,55	17,37	$C_{30}H_{50}O$	426	

*mg do composto/mg de insaponificável; FM: Fórmula Molecular; MM: Massa Molecular

O teor de fitoesteróis obtido na fração insaponificável do epicarpo de buriti foi de 528,07 mg/mg de fitoesteróis totais, o que destaca sua valiosa propriedade nutricional. Os esteróis dietéticos podem reduzir o risco de desenvolvimento de vários tumores comuns, incluindo câncer da mama, do cólon, próstata (Saheli et al., 2020; Bradford e Awad, 2007; Touillaud et al., 2005) e neurodegenerativas dependendo da natureza e das concentrações (Sharma, Tan e An, 2021; Jie et al., 2022). Devido aos seus diversos efeitos fisiológicos, os fitoesteróis têm grande potencial para uso em alimentos funcionais, suplementos e produtos farmacêuticos projetados para melhorar a saúde humana (Liu et al., 2023).

No estudo de Sudaram, Muthu e Prabhakaran (2024), que tinha como objetivo verificar os potenciais benefícios do lupeol e do β -sitosterol na redução de complicações causadas por dieta rica em gordura e estreptozotocina, em ratos diabéticos, o tratamento oral reduziu drasticamente a glicemia e o índice HOMA-IR (modelo homeostático de avaliação para resistência à insulina).

Tabela 4. Compostos predominantes na fração insaponificável do epicarpo do buriti.

Compostos Totais	Valor (mg/mg)	%
Fitoesteróis	528,07	67,4
Outros compostos	255,17	32,6
Total	783,14	100,0
Fitoesteróis	Valor (mg/mg)	%
β -sitosterol	405,67	76,8
Estigmasterol	74,23	14,1
Ergosterol	33,27	6,30
Estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol	14,90	2,80
Total	528,07	100,0

Estudos comprovam que o óleo de buriti é rico em tocoferóis, em que tanto o β -tocoferol quanto o α -tocoferol representam cerca de 80% dos tocóis metílicos totais (Serra et al., 2019; Coelho et al., 2023). A fração insaponificável do epicarpo do buriti, apresentou um teor total de tocoferóis de 74,38 mg/mg e destes a maior parte era de γ -tocoferol, seguido de α -tocoferol (Coelho et al., 2023; Bartolini et al., 2022; Jiang, 2024).

De acordo com Coelho et al. (2023) após análise de estudos que incluíram modelos animais, com experimentos *in vitro* em linhagens de células cancerígenas, após suplementação com tocoferóis, misturas (tocoferóis e tocotrienóis) e formas sintéticas de vitamina E, houve um atraso no desenvolvimento do tumor, redução no tamanho, proliferação, viabilidade, expressão de genes anti-apoptóticos, na proliferação celular, e nos genes pró-apoptóticos regulados positivamente, nos genes supressores de tumor e no aumento da resposta imune. Esses achados sugerem que os tocoferóis presentes na fração insaponificável do epicarpo do buriti, podem desempenhar um papel importante na prevenção e no tratamento de doenças crônicas, como o câncer, além de reforçar o valor do buriti como um ingrediente funcional em produtos voltados para a saúde.

O presente estudo identificou a presença de terpenos e terpenóides, incluindo o acetato de farnesil, fitol, isômeros de farnesol, lupeol e acetato de cicloartenol. As propriedades desses metabólitos isolados de plantas, têm mostrado um grande espectro de atividades biológicas, tais como: anti-inflamatória, antinociceptiva, hepatoprotetora,

efeito sedativo, antioxidante, antimicrobiana e alta seletividade anticancerígena (Casuga, Castillo, & Corpuz, 2016; Qing et al., 2017).

3.6 Análise por Infravermelho no extrato hexânico e na fração insaponificável

Para análise de infravermelho os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em Espectrofotômetro marca Shimadzu, modelo IR Prestige, utilizando o suporte de amostra: ATR de mono reflexão com cristal de ZnSe na faixa de $4.000-1000\text{ cm}^{-1}$. Alíquotas do extrato hexânico e da fração de insaponificável foram submetidas à análise de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) como mostra as imagens abaixo: Infravermelho do extrato hexânico Figura 8(a) e infravermelho da fração insaponificável 8(b).

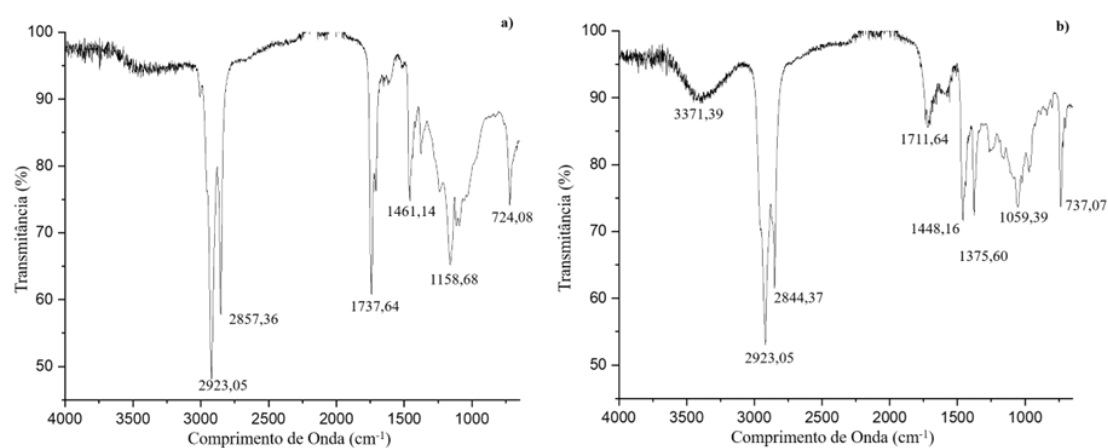


Figura 6: Espectro de Infravermelho no extrato hexânico (a) e na fração insaponificável (b)

A análise por infravermelho (FTIR) do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti revela a presença de diferentes grupos funcionais. No extrato hexânico, uma banda de absorção em 1737 cm^{-1} é atribuída a grupos carbonila ($\text{C}=\text{O}$), indicando a presença de ésteres de ácidos graxos como os triglicerídeos, além de outros compostos carbonílicos como aldeídos e cetonas. Na fração insaponificável, foram identificadas bandas de hidroxila (OH) e hidrocarbonetos alifáticos, indicando a presença de álcoois, fenóis e hidrocarbonetos, além de compostos insaturados e cicloalcanos, como fitoesteróis, tocoferóis e triterpenos. Esses resultados são consistentes com a literatura, destacando a complexidade e diversidade dos compostos bioativos presentes no epicarpo do buriti.

3.7 Potencial antioxidante do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti.

A atividade antioxidante, utilizando o método de captura dos radicais DPPH, do Extrato Hexânico (EH) e da Fração Insaponificável (FI) avaliadas neste estudo está apresentada na Figura 7. Os resultados foram expressos em IC_{50} e convertidos em

percentual de inibição. Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa entre as amostras, observou-se que a FI teve um aumento no percentual de inibição à medida que a concentração aumentava, sendo superior ao observado no EH. Isso sugere que a FI tem um potencial antioxidante mais elevado que o EH, pois conseguiu neutralizar uma maior quantidade de radicais livres a menores concentrações. A IC_{50} maior para o EH indica que ele foi menos eficiente em comparação à FI, necessitando de uma maior concentração para atingir o mesmo nível de inibição dos radicais DPPH. Isso pode estar relacionado à maior concentração de compostos bioativos antioxidantes na FI em comparação ao EH.

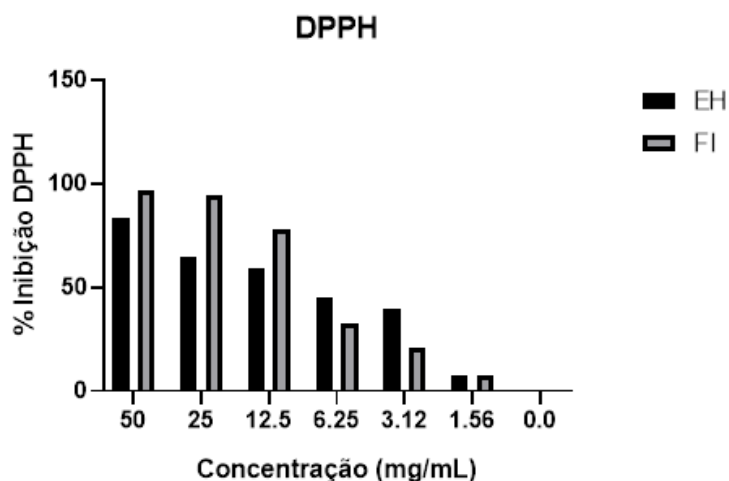


Figura 7. Percentual de inibição de radicais DPPH no extrato hexânico e na fração insaponificável

Legenda: DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; EH – extrato hexânico; FI - fração insaponificável.

IC_{50} : Concentração inibitória capaz de sequestrar 50% dos compostos oxidantes no meio reacional.

Padrão ácido gálico: 0,009mg/mL. IC_{50} para EH = 8,1; IC_{50} para FI = 7,92.

Os valores de absorbância foram convertidos em porcentagem de inibição (I) dos radicais: $I (\%) = [(1 - \text{absorbância da amostra} / \text{absorbância do controle}) \times 100]$. $p > 0,05$ Unpaired t test.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a inibição de radicais livres (%) EH e o FI no teste de sequestro do radical ABTS• (Figura 8). No entanto é importante destacar que nas concentrações mais baixas (1,56 e 3,12) a FI obteve desempenho melhor quando comparado ao EH. Isso sugere que a FI é mais eficaz em condições de baixa concentração, o que pode ser relevante para aplicações onde quantidades menores de antioxidantes são desejáveis ou necessárias.

Além disso, a FI apresentou uma IC_{50} de 7,92 mg/mL, que foi consistente tanto no teste ABTS• quanto no teste de captura de radicais DPPH. Esse valor de IC_{50} , que é inferior ao do EH, indica que a FI tem uma atividade antioxidante mais elevada, uma vez que valores menores de IC_{50} refletem uma maior eficiência em neutralizar radicais livres.

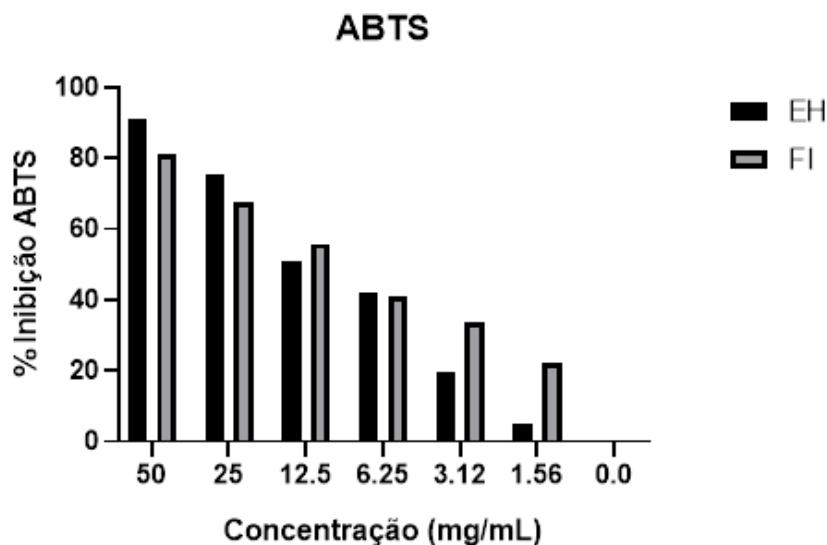


Figura 8. Percentual de inibição de radicais ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável

Legenda: ABTS: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); EH – extrato hexânico; FI - fração insaponificável.

IC₅₀: Concentração inibitória capaz de sequestrar 50% dos compostos oxidantes no meio reacional. Padrão ácido gálico: 0,021mg/mL. IC₅₀ para EH = 10,15; IC₅₀ para FI = 7,92.

Os valores de absorvância foram convertidos em porcentagem de inibição (I) dos radicais: $I (\%) = [(1 - \text{absorvância da amostra}) / \text{absorvância do controle}] \times 100$. $p > 0,05$ Unpaired t test.

O desempenho do extrato hexânico e da fração insaponificável em relação à inibição dos radicais DPPH e ABTS deve ser atribuído aos constituintes apolares presentes, pois o solvente utilizado possui baixa polaridade e extrai eficientemente os lipídios ou compostos lipofílicos, como os tocoferóis que são antioxidantes importantes e estão presentes, dentre os compostos que foram identificados no epicarpo do buriti (Minter et al., 2020; Wallert et al., 2019).

Segundo Rudke et al. (2021), os extratos da casca do buriti apresentaram maior conteúdo fenólicos totais e melhor atividade antioxidante que a polpa. Estes dados concordam com Resende et al. (2019), que produziu farinhas de diferentes partes de buriti, sendo que as cascas apresentaram melhor desempenho em conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante. Esses resultados eram esperados porque a parte externa do fruto deve protegê-lo de agentes externos como luz solar e ataques de microrganismos (Pereira-Freire et al., 2018). Esses dados sugerem que o epicarpo, devido à presença concentrada de antioxidantes como os tocoferóis, possui um potencial significativo para inibir radicais livres, o que corrobora com a maior atividade antioxidante observada nos testes realizados.

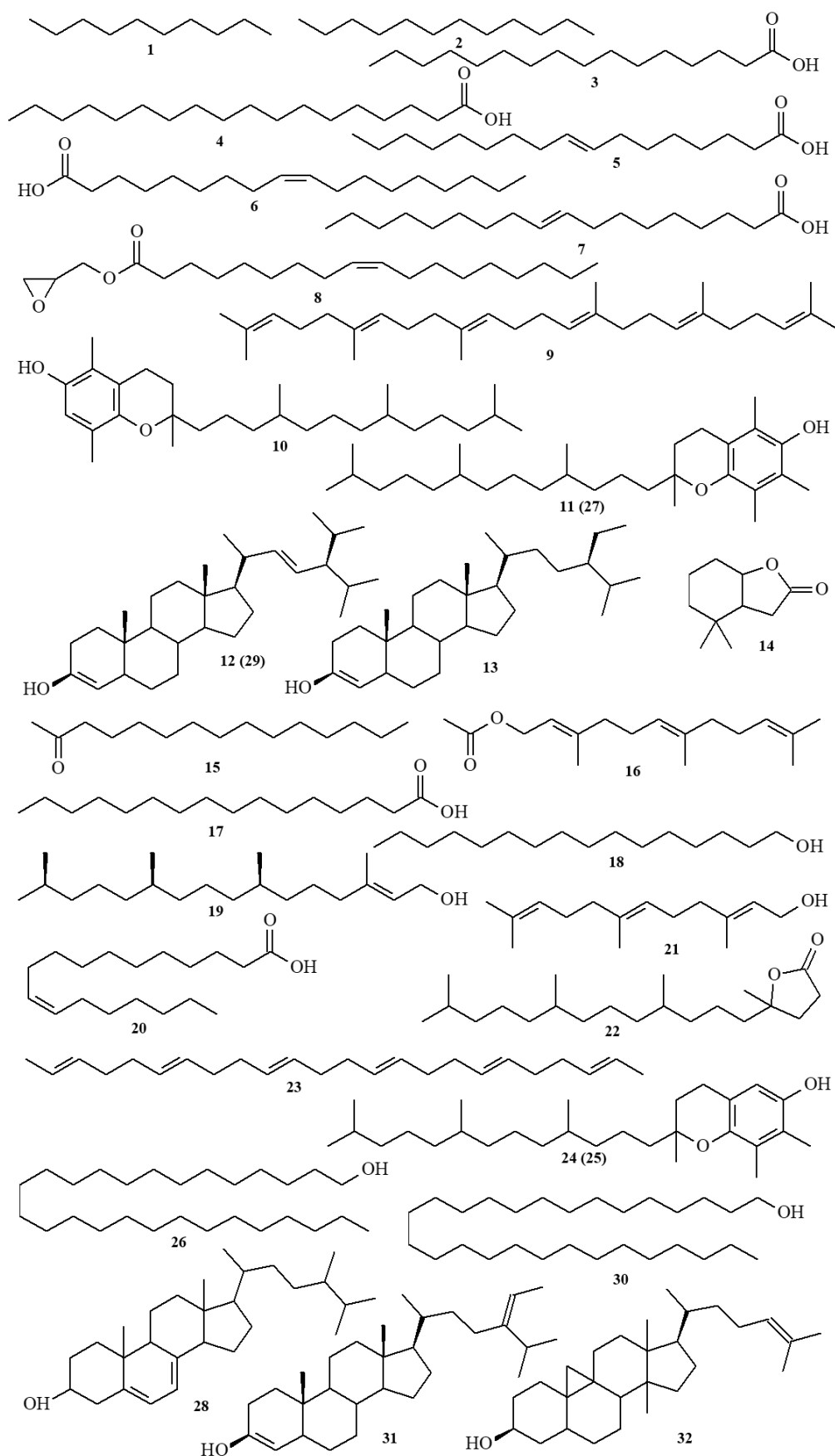
4 Conclusão

Este estudo apresentou uma análise detalhada dos componentes bioativos presentes no epicarpo dos frutos de *Mauritia flexuosa*, revelando um perfil rico em ácidos graxos insaturados, fitosteróis, tocoferóis e terpenóides. Através da técnica de CG-EM, foi possível identificar e quantificar os principais compostos, destacando-se a presença majoritária e significativa de β -sitoesterol, bem como uma variedade de outros fitosteróis com potencial terapêutico. Outros compostos importantes identificados foram os minerais cálcio, ferro, manganês e cobre, alcançando valores acima de 50%

da recomendação diária para pessoas entre 25 e 50 anos de idade. Além disso possui atividade antioxidante significativa em faixas acima de 6,25mg/ml.

Os resultados obtidos reforçam o valor do epicarpo de buriti como um coproduto promissor, com aplicações potenciais nas indústrias biotecnológica, alimentícia, cosmética e farmacêutica, devido às suas atividades biológicas e capacidade de prevenir doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo. O estudo também destaca a importância de valorizar frutos nativos subutilizados, mostrando que o aproveitamento integral desses recursos não apenas promove a sustentabilidade e estimula a economia local, mas também fomenta a inovação, oferecendo novas fontes de compostos bioativos que beneficiam tanto a sociedade quanto o meio ambiente.

APENDICE 1 - Estruturas Químicas dos Compostos Identificados



LEGENDA DO APENDICE 1:

- 1 – Decano
- 2 - Dodecano
- 3 - n-Hexadecanoic acid (Ácido Palmitico)
- 4 - Ácido octadecanoico (ácido Esteárico)
- 5 - Ácido carbônico 8-heptadeceno
- 6 - cis-9-Octadecenoic acid (Ácido oleico)
- 7 - Trans-9-Octadecenoic acid (Ácido elaidico)
- 8 - Glycidyl oleate 9- 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaeno, 2,6,10,15,19,23-hexametil (Esqualeno)
- 10 - b-Tocopherol
- 11 - a-Tocopherol
- 12 - Estigmasta-5,22-dien-3-ol
- 13 - b-Sitosterol
- 14 - 2(4H)-Benzofuranona, 5,6,7,7a-tetraidro-4,4,7a-trimetil-
- 15 - 2-Pentadecanona
- 16 - Acetato de farnesil
- 17 - Ácido Hexadecanoico
- 18 - 1-Hexadecanol
- 19 – Fitol
- 20 - Ácido cis-Vaccenico
- 21 - Isômero do Farnesol
- 22 - 4,8,12,16-Tetramethyl heptadecan-4-olide
- 23 - 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaeno
- 24 - γ -Tocopherol
- 25 - Isômero do γ -Tocopherol
- 26 - 1-Heptacosanol
- 27 - α -Tocoferol
- 28 – Ergosterol
- 29 – Stigmasterol
- 30 - 1-Octacosanol
- 31 - Stigmasta-5,24(28) -dien-3-ol
- 32 - Olean-12-en-3-ol
- 33 – Lupeol
- 34 - 9,19-Ciclolanost-24-en-3-ol

REFERÊNCIAS

- Rudke AR, Andrade KS, Mazzutti S, Zielinski AAF, Alves VR, Vitali L, et al. A comparative study of phenolic compounds profile and in vitro antioxidant activity from buriti (*Mauritia flexuosa*) by-products extracts. *LWT*. 2021;150:111941. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111941>
- Resende LM, Franca AS, Oliveira LS. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. *Food Chem*. 2019;270:53–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.079>
- Tovar R, Gavito AL, Vargas A, Soverchia L, Hernández-Folgado L, Jagerovic N, et al. Palmitoleoiletanolamida é um composto endógeno anti-obesidade eficiente: comparação com oleoiletanolamida na obesidade induzida por dieta. *Nutrients*. 2021;13:2589. <https://doi.org/10.3390/nu13082589>
- Saheli B, Quispe C, Sharifi-Rad J, Cruz-Martins N, Nigam M, Mishra AP, et al. Phytosterols: From Preclinical Evidence to Potential Clinical Applications. *Front Pharmacol*. 2020;11:11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.599959>
- Bradford PG, Awad AB. Phytosterols as anticancer compounds. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(2):161-170.
- Touillaud MS, Pillow PC, Jakovljevic J, Bondy ML, Singletary SE, Li DH, et al. Effect of dietary intake of phytoestrogens on estrogen receptor status in premenopausal woman with breast cancer. *Nutr Cancer*. 2005;51(2):162-169.
- Tyagi S, Rathinam M, Shashank PR, Chaudhary N, Shasany AK, Sreevathsa R. Deciphering of pod borer [*Helicoverpa armigera* (Hübner)] resistance in *Cajanus platycarpus* (Benth.) offers novel insights on the reprogramming and role of flavonoid biosynthesis pathway. *Toxins (Basel)*. 2022;14(7):455. <https://doi.org/10.3390/toxins14070455>
- Sharma N, Tan MA, An SSA. Phytosterols: Potential metabolic modulators in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12):12. <https://doi.org/10.3390/ijms22126410>
- Jie F, Yang X, Wu L, Wang M, Lu B. Linking phytosterols and oxyphytosterols from food to brain health: origins, effects, and underlying mechanisms. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022;62(13):3613-3630. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1903388>
- Anunciação PC, Giuffrida D, Mudador DC, de Paula Filho GX, Dugo G, Pinheiro-Sant'Ana HM. Identification and quantification of the native carotenoid composition in fruits from the Brazilian Amazon by HPLC–DAD–APCI/MS. *J Food Compos Anal*. 2019;83:103282. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103282>
- Aquino JS, Soares JKB, Magnani M, Stamford TCM, Mascarenhas RJ, Tavares RL, Stamford TLM. Effects of dietary Brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. *Molecules*. 2015;20:9054-70.

Igbal MP. Trans fatty acids—a risk factor for cardiovascular disease. *Pak J Med Sci.* 2014;30:194-197.

Mourão CP, Martins ER, Costa KP. Tecnologias para a colheita e processamento de *Mauritia flexuosa* em comunidades rurais no norte de Minas Gerais. In: Oliveira RJ, editor. *Silvicultura e manejo florestal: técnicas de utilização e conservação da natureza*. Guarujá-SP: Científica Digital; 2021. p. 414-425.

Siqueira EP, Andrade AA, De Souza-Fagundes EM, Ramos JP, Kohlhoff M, Nunes YR, et al. In vitro antibacterial action on methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L. f. *J Med Plants Res.* 2014;8:1408-17.

Souza NFS, Viana DSF. Aspectos ecológicos e potencial econômico do buriti (*Mauritia flexuosa*). *Agrarian Academy.* 2018;5(9):535-549.

Koolen HHF, da Silva FMA, Gozzo FC, de Souza AQL, de Souza ADL. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. *Food Res Int.* 2013;51(2):467-473.

Neves LC, Tosin JM, Benedette RM, Cisneros-Zevallos L. Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. *Food Chem.* 2015;174:188-196.

Nunes CA. *Tecnologia de óleos e gorduras para engenharia de alimentos*. 1ª ed. Lavras-MG: UFLA; 2013. p. 69.

Pereira-Freire JA, Barros KBN, Lima LK, Martins JM, Araújo YC, Da Silva Oliveira GL, et al. Phytochemistry profile, nutritional properties and pharmacological activities of *Mauritia flexuosa*. *J Food Sci.* 2016;81(11):2611-2622.

Pereira-Freire JA, Oliveira GLS, Lima LKF, Ramos CLS, Arcanjo-Medeiros SR, De Lima ACS, et al. In Vitro and Ex Vivo Chemopreventive Action of *Mauritia flexuosa* Products. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018.

Pereira-Freire JA, Aquino JS, Campos ARN, Viana VGF, Frota KMG, Júnior JSC, et al. Nutritional, Physicochemical and Structural Parameters of *Mauritia flexuosa* Fruits and By-Products for Biotechnological Exploration of Sustainable Goods. *Food Technol Biotechnol.* 2022;60(2):155-165. doi: 10.17113/ftb.60.02.22.7106.

Klein T, Longhini R, Bruschi ML, Mello JCP. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Rev Cienc Farm Bas Apl.* 2009;30(3):241-248.

Gromadzka J, Wardencki W. Trends in Edible Vegetable Oils Analysis. Part A. Determination of Different Components of Edible Oils – a Review. *Pol J Food Nutr Sci.* 2011;61(1):33-43.

Ferreira RR, Bezerra LR, Torreão CA, Torreão JNC, Edvan RL, Araújo MJ, et al. Fermentation characteristics and nutritional quality of elephant grass silage added the buriti fruit peel. *Semina Cienc Agrar.* 2017;38(2):931-942.

Forero-Doria O, Gallego J, Valdes O, Pinzon-Topal C, Santos LS, Guzmán L. Relationship between oxidative stability and antioxidant activity of oil extracted from the peel of *Mauritia flexuosa* fruits. *J Therm Anal Calorim*. 2016;123(3):2173-2178.

Fuentes E, Rodríguez-Pérez W, Guzmán L, Alarcon M, Navarrete S, Forero-Doria O, et al. *Mauritia flexuosa* presents in vitro and in vivo antiplatelet and antithrombotic activities. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013.

Pezoti Junior O, Cazetta AL, Souza IPAF, Bedin KC, Martins AC, Silva TL, et al. Adsorption studies of methylene blue onto ZnCl₂-activated carbon produced from buriti shells (*Mauritia flexuosa* L.). *J Ind Eng Chem*. 2014;20:4401-4407.

Rudke AR, Mazzutti S, Andrade KS, Vitali L, Ferreira SRS. Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. *Food Chem*. 2019;298.

Tauchen J, Bortl L, Huml L, Miksatkova P, Daskocil I, Marsik P, et al. Phenolic composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants from the Peruvian Amazon. *Braz J Pharmacogn*. 2016;26(6):728–737.

Silva NRRN, Cavalcante RBM, Silva FA. Nutritional Properties of Buriti (*Mauritia flexuosa*) and health benefits. *J Food Compos Anal*. 2023;117.

Gonzalez-Hedstr D, Granado M, Inarejos-García AM. Protective effects of extra virgin olive oil against storage-induced omega 3 fatty acid oxidation of algae oil. *NFS J*. 2020;21:9-15.

Agostini C, Moreno L, Shamir R. Palmitic Acid and Health: Introduction. *Food Sci Nutr*. 2016;56:1941-1942.

Storck CR, Nunes GL, Oliveira BB, Basso C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. *Cienc Rural*. 2013;43(3):537-543.

Costa PF, Ballus CA, Teixeira-Filho J, Godoy HT. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. *Food Res Int*. 2010;43:1603-1606.

De Souza Aquino J, Batista KS, Araújo-Silva G, Dos Santos DC, De Brito NJN, López JA, et al. Antioxidant and Lipid-Lowering Effects of Buriti Oil (*Mauritia flexuosa* L.) Administered to Iron-Overloaded Rats. *Molecules*. 2023;28(2585). doi:10.3390/molecules28062585.

Freitas MLF, Chisté RC, Polachini TC, Sardella LACZ, Aranha CPM, Ribeiro APB, et al. Quality characteristics and thermal behavior of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. *Grasas y Aceites*. 2017;68(4).

Silva SM, Sampaio KA, Taham T, Rocco SA, Ceriani R, Meirelles AJA. Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the Brazilian amazon region. *J Am Oil Chem Soc*. 2009;86:611–616.

Santa-María C, López-Enríquez S, Monteserrat-De La Paz S, Geniz I, Reyes-Quiroz ME, Moreno M, et al. Update on Anti-Inflammatory Molecular Mechanisms Induced by Oleic Acid. *Nutrients*. 2023;15(224).

Marcelino G, Hiane PA, Freitas KC, Santana LF, Pott A, Donadon JR, Guimarães RCA. Effects of olive oil and its minor components on cardiovascular diseases, inflammation, and gut microbiota. *Nutrients*. 2019;11(8). doi:10.3390/nu11081826.

Speranza P, Falcão AO, Macedo JA, Silva LHM, Rodrigues AMC, Macedo GA. Amazonian Buriti oil: Chemical characterization and antioxidant potential. *Grasas y Aceites*. 2016;67:2. <https://doi.org/10.3989/gya.0622152>

Soares JF, Borges LA, Brandi IV, Santos SHS, Lima JP. Caracterização do óleo de buriti produzido no Norte de Minas Gerais: parâmetros de qualidade, perfil de ácidos graxos e conteúdo de carotenoides. *Research, Society and Development*. 2021;10(3). <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13734>

Pemovska T, Bigenzahn JW, Superti-Furga G. Recent advances in combinatorial drug screening and synergy scoring. *Curr Opin Pharmacol*. 2018 Oct;42:102-110. doi: 10.1016/j.coph.2018.07.008. Epub 2018 Sep 5. PMID: 30193150; PMCID: PMC6219891.

Pereira GS, Freitas PM, Basso SL, Araújo PM, Santos RR, Araújo PM, et al. Quality control of the buriti oil (*Mauritia flexuosa* L. f.) for use in 3-phase oil formulation for skin hydration. *Int J Phytocosmetics Nat Ingredients*. 2018;5(1):1-5. <https://doi.org/10.15171/ijpni.2018.01>

Cruz MB, Oliveira WS, Araújo RL, Honório França AC, Pertuazatti PB. Buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) pulp oil as an immunomodulator against enteropathogenic *Escherichia coli*. *Ind Crops Prod*. 2020;149. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112330>

Lescano CH, Oliveira IP, Freitas de Lima F, Baldivia DS, Justi PN, Cardoso CAL, et al. Nutritional and chemical characterizations of fruits obtained from *Syagrus romanzoffiana*, *Attalea dubia*, *Attalea phalerata* and *Mauritia flexuosa*. *J Food Meas Charact*. 2018;12(2):1284–1294. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9742-3>

Serra JL, Rodrigues AMC, Freitas RA, Meirelles AJA, Darnet SH, Silva LHM. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocopherols, total carotenoids and chemical composition. *Food Res Int*. 2019;116:12–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.028>

Oliveira RMM, Pereira FT, Pereira EC, Mendonça CJS. Óleo de Buriti: Índice de qualidade e efeito antioxidante e antidiabético. *Rev Virtual Quim*. 2020;12(1):2-12. DOI: 10.21577/1984-6835.20200002

Liu KY, Nakatsu CH, Jones-Hall Y, Kozik A, Jiang Q. Vitamin E alpha- and gamma-tocopherol mitigate colitis, protect intestinal barrier function and modulate the gut microbiota in mice. *Free Radic Biol Med*. 2021;163:180-189. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.017>

Minter BE, Lowes DA, Webster NR, Galley HF. Differential effects of MitoVitE, α -Tocopherol and Trolox on oxidative stress, mitochondrial function and inflammatory signalling pathways in endothelial cells cultured under conditions mimicking sepsis. *Antioxidants*. 2020;9(3). <https://doi.org/10.3390/antiox9030195>

Wallert M, Ziegler M, Wang X, Maluenda A, Xuc X, Yap ML, et al. α -Tocopherol preserves cardiac function by reducing oxidative stress and inflammation in ischemia/reperfusion injury. *Redox Biol*. 2019;26. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101292>

Babu S, Jayaraman S. An update on β -sitosterol: A potential herbal nutraceutical for diabetic management. *Biomed Pharmacother*. 2020;131. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110702>

Cândido TLN, Silva MR. Comparison of the physicochemical profiles of buriti from the Brazilian Cerrado and the Amazon region. *Food Sci Technol*. 2017;37(Suppl 1):78-82. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.32516>

Nascimento ALAA, Brandi IV, Durães CAF, Lima JP, Soares SB, Mesquita BMAC. Chemical characterization and antioxidant potential of native fruits of the Cerrado of northern Minas Gerais. *Braz J Food Technol*. 2020;23. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.29619>

Liu Z, Liu X, Ma Z, Guan T. Phytosterols in rice bran and their health benefits. *Front Nutr*. 2023;10. DOI: 10.3389/fnut.2023.1287405

Caligiani A, Bonzanini F, Palla G, Cirlini M, Bruni R. Characterization of a potential nutraceutical ingredient: Pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil unsaponifiable fraction. *Plant Foods Hum Nutr*. 2010;65:277-283.

Santiago PD, Tenbergen K, Vélez-Jimenez E, Cardador-Martínez MA. Functional attributes of amaranth. *Austin J Nutr Food Sci*. 2014;2:1-6.

Landström E. To choose or not to choose functional foods, that is the question. Swedish consumers' and health-care professionals' attitudes to and use of functional foods. Uppsala: Uppsala Universitet, Samhällsvetenskapliga fakulteten; 2008. p. 1–115.

Casuga FP, Castillo AL, Corpuz MJT. GC–MS analysis of bioactive compounds present in different extracts of an endemic plant *Broussonetia luzonica* (Blanco) (Moraceae) leaves. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2016;6(11):957-61. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.08.015>

León-Camacho M, Viera-Alcaide I, Vicario IM. Acorn (*Quercus* spp.) fruit lipids: Saponifiable and unsaponifiable fractions: A detailed study. *J Am Oil Chem Soc*. 2004;81:447-53. <https://doi.org/10.1007/s11746-004-0921-8>

Santos CCM, Salvadori MS, Mota VG, Costa LM, de Almeida AAC, de Oliveira GAL, et al. Antinociceptive and antioxidant activities of phytol in vivo and in vitro models. *Neurosci J*. 2013;2013:949452. <https://doi.org/10.1155/2013/949452>

Pejin B, Savic A, Sokovic M, Glamoclija J, Ciric A, Nikolic M, et al. Further in vitro evaluation of antiradical and antimicrobial activities of phytol. *Nat Prod Res.* 2014;28(6):372-6. <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.869692>

Ogunlesi M, Okiei W, Ofor E, Osibete AE. Analysis of the essential oil from the dried leaves of *Euphorbia hirta* Linn (Euphorbiaceae), a potential medication for asthma. *Afr J Biotechnol.* 2009;8(24):7042-50.

Satyral P, Dosoky NS, Poudol A, Setzer WN. Essential oil constituents and their biologic activities from the leaves of *Cassia fistula* growing in Nepal. *Open Access J Med Aromat Plants.* 2012;3(2):1-4.

Malhotra H, Kumar A, Afaq Y. Molecular docking analysis of FDA approved drugs with the glycoprotein from Junin and Machupo viruses. *Bioinformation.* 2022;18(2):119-26. DOI: 10.6026/97320630018119

Santos FA, Frota JT, Arruda BR, Melo TS, Silva AA, Brito GA, et al. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of α , β -amyrin, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice. *Lipids Health Dis.* 2012;11:98. DOI: 10.1186/1476-511X-11-98

Ahmed BE, Badawi MH, Mostafa SS, Higazy AM. Human anticancers and antidiabetic activities of the cyanobacterium *Fischerella* sp. BS1-EG isolated from River Nile, Egypt. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2018;7(1):3473-85. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.409>

Byju K, Anuradha V, Rosmine E, Kumar NC, Nair SM. Chemical characterization of the lipophilic extract of *Hydrilla verticillata*: a widely spread aquatic weed. *J Plant Biochem Biotechnol.* 2013;22(3):304-11. DOI: 10.1007/s13562-012-0159-5

Prabha SP, Karthik C, Chandrika SH. Phytol – A biosurfactant from the aquatic weed *Hydrilla verticillata*. *Biocatalysis Agric Biotechnol.* 2019;17:736-42. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.026>

Asha A, Gayathri Devi V, Abraham A. Lupeol, a pentacyclic triterpenoid isolated from *Vernonia cinerea* attenuates selenite-induced cataract formation in Sprague Dawley rat pups. *Chem Biol Interact.* 2016;245:20-9. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.12.002>

Badshah H, Ali T, Rehman SU, Amin FU, Ullah F, Kim TH, Kim MO. Protective effect of lupeol against lipopolysaccharide-induced neuroinflammation via the p38/c-Jun N-terminal kinase pathway in the adult mouse brain. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2016;11:48-60. <https://doi.org/10.1007/s11481-015-9623-z>

Kasinathan NK, Subramaniya B, Sivasithamparam ND. NF- κ B/twist mediated regulation of colonic inflammation by lupeol in abating dextran sodium sulfate induced colitis in mice. *J Funct Foods.* 2018;41:240-9. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.048>

Saha S, Profumo E, Togna AR, Rigano R, Saso L, Buttari B. Lupeol counteracts the proinflammatory signalling triggered in macrophages by 7-keto-cholesterol: new perspectives in the therapy of atherosclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1232816. <https://doi.org/10.1155/2020/1232816>

Zhu Y, Li X, Chen J, Chen T, Shi Z, Lei M, Zhang Y, Bai P, Li Y, Fei X. The pentacyclic triterpene lupeol switches M1 macrophages to M2 and ameliorates experimental inflammatory bowel disease. *Int Immunopharmacol.* 2016;30:74-84. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.11.031>

Liu K, Zhang X, Xie L, Deng M, Chen H, Song J, Long J, Li X, Luo J. Lupeol and its derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents: molecular mechanisms and therapeutic efficacy. *Pharmacol Res.* 2021;164:105373. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105373>

Siddique HR, Saleem M. Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. *Life Sci.* 2011;88:285-93. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.11.020>

Soares DCF, de Paula Oliveira DC, Barcelos LS, Barbosa AS, Vieira LC, Townsend DM, Rubello D, de Barros ALB, Duarte LP, Silva-Cunha A. Antiangiogenic activity of PLGA-lupeol implants for potential intravitreal applications. *Biomed Pharmacother.* 2017;92:394-402. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.093>

Smolarek AK, So JY, Thomas PE, Lee HJ, Paul S, Dombrowski A, Wang CX, Saw CL, Khor TO, Kong AN, Reuhl K, Lee MJ, Yang CS, Suh N. Dietary tocopherols inhibit cell proliferation, regulate expression of ER α , PPAR γ , and Nrf2, and decrease serum inflammatory markers during the development of mammary hyperplasia. *Mol Carcinog.* 2013;52:514-25. doi: 10.1002/mc.21886

Aggarwal BB, Sundaram C, Prasad S, Kannappan R. Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: its potential against cancer and other chronic diseases. *Biochem Pharmacol.* 2010;80:1613-31. doi: 10.1016/j.bcp.2010.07.043

Traber MG. Vitamin E regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr.* 2007;27:347-62. doi: 10.1146/annurev.nutr.27.061406.093819

Meganathan P, Fu JY. Biological properties of tocotrienols: evidence in human studies. *Int J Mol Sci.* 2016;17. doi: 10.3390/ijms17111682

Ito VM. Concentração de tocoferóis e fitoesteróis a partir do destilado desodorizado de óleos vegetais através de processos de destilação molecular. 2007. 262 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

Bataglioni GA, Paz WHP, Adriaio AAX, da Rocha Albuquerque JM, da Silva FM, Numa IAN, Angolini CFF, Pastore GM, Koolen HHF. Bioactive compounds of buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.) p. 1–26. In: Murthy H, Bapat V, editors. *Bioactive compounds in underutilized fruits and nuts*. Phytochemistry Reference Series. Springer, Cham; 2019. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06120-3_29-1

Serra JL, Rodrigues AMC, Freitas RA, Meirelles AJA, Darnet SH, Silva LHM. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: fatty acids, methyl tocols, total carotenoids and chemical composition. *Food Res Int.* 2019;116:12-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.028>

Lopes JMM, Lage NN, Guerra JFC, Silva M, Bonomo LF, Paulino AHS, Regis ALRS, Pedrosa ML, Silva ME. A preliminary exploration of the potential of *Eugenia uvalha*

Cambess juice intake to counter oxidative stress. *Food Res Int.* 2018;105:563-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.067>

Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958;181(4617):1199-200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>

Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci.* 1993;84(4):407-12. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>

Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 1965;16(3):144-58. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>

Kefayati Z, Motamed S, Shojaei A, Noori M, Ghods R. Antioxidant activity and phenolic and flavonoid contents of the extract and subfractions of *Euphorbia splendida* Mobayen. *Pharmacognosy Res.* 2017;9(4):362. https://doi.org/10.4103/pr.pr_12_17

Chandran H, Meena M, Barupal T, Sharma K. Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. *Biotechnol Rep.* 2020;26 <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00450>

Dalal D, Kunte S, Oblureddy VT, Anjali AK. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of German chamomile extract, tea tree oil, and chlorhexidine as root canal irrigants against *E. faecalis* and *Streptococcus mutans* - an in vitro study. *Int J Agric Biosci.* 2023;12(4):252-6. <https://doi.org/10.47278/journal.ijab/2023.072>

Koolen HHF, Silva FM, Silva VSV, Paz WHP, Bataglioni GA. Buriti fruit—*Mauritia flexuosa*. In: *Exotic Fruits*. p. 61-7. 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00004-6>

Zahid M, Khalid S, Raana S, Amin S, Javaid H, Arshad R, Jahangeer A, Ahmad S, Hassan SA. Unveiling the anti-oxidative potential of fruits and vegetables waste in prolonging the shelf stability of vegetable oils. *Future Foods.* 2024;10:100328. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100328>

Minter BE, Lowes DA, Webster NR, Galley HF. Differential effects of mitoVitE, α -tocopherol and Trolox on oxidative stress, mitochondrial function and inflammatory signalling pathways in endothelial cells cultured under conditions mimicking sepsis. *Antioxidants.* 2020;9(3):195. <https://doi.org/10.3390/antiox9030195>

Wallert M, Ziegler M, Wang X, Maluenda A, Xu X, Yap ML, Witt R, Giles C, Klug S, Hortmann M, Zhang J, Meikle P, Lorkowski S, Peter K. α -Tocopherol preserves cardiac function by reducing oxidative stress and inflammation in ischemia/reperfusion injury. *Redox Biol.* 2019;26:101292. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101292>

Xue L, Yang R, Wang X, Ma F, Yu L, Zhang L, Li P. Comparative advantages of chemical compositions of specific edible vegetable oils. *Oil Crop Sci.* 2023;8:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2023.02.005>

Hartman L, Lago RC. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab Pract.* 1973;22(6):475-6.

Amorim VR, Rodrigues DCN, Silva JN, Ramos CLS, Almeida LMN, Almeida AAC, Pinheiro-Neto FR, Almeida FRC, Rizzo MS, Pereira-Freire JA, Ferreira PMP. Anti-inflammatory mechanisms of fruits and byproducts from *Mauritia flexuosa*, an exotic plant with functional benefits. *J Toxicol Environ Health A*. 2021;84(11):441-57. <https://doi.org/10.1080/15287394.2021.1881672>

Peixoto-Araújo NM, Arruda HS, Marques DRP, de Oliveira WQ, Pereira GA, Pastore GM. Functional and nutritional properties of selected Amazon fruits: a review. *Food Res Int*. 2021;147:110520. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110520>

Assmann CE, Weis GCC, da Rosa JR, Bonadiman BSR, Alves AO, Shetinger MRC, Ribeiro EE, Morsch VMM, da Cruz IBM. Amazon-derived nutraceuticals: promises to mitigate chronic inflammatory states and neuroinflammation. *Neurochem Int*. 2021;148:105085. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105085>

Barboza NL, Cruz JMA, Correa RF, Lamarão CV, Lima AR, Inada NM, Sanches EA, Bezerra JA, Campelo PH. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.): An Amazonian fruit with potential health benefits. *Food Res Int*. 2022;159:111654. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111654>

Leite PIP, Barreto SMAG, Freitas PR, de Araújo ACJ, Paulo CLR, de Almeida RS, de Sousa Junior FC. Extraction of bioactive compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) fruit by eco-friendly solvents: Chemical and functional characterization. *Sustainable Chem Pharm*. 2021;22:100489. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100489>

Henrichs E, Noack T, Pinzon PAM, Salem MA, Stolz J, Krupitzer C. Can a byte improve our bite? An analysis of digital twins in the food industry. *Sensors (Basel)*. 2021;21(1):115. <https://doi.org/10.3390/s22010115>

Garcia-Llatas G, Alegría A, Barbera R, Cilla A. Current methodologies for phytosterol analysis in foods. *Microchem J*. 2021;168:106377. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106377>

Pessoa MLSB, Spíndola MRS, Leão GM, Moura CBS, Rocha DL, Pereira-Freire JA, Medeiros SRA. Evidências experimentais e clínicas do efeito dos fitoesteróis e fitoesteranóis na prevenção das dislipidemias. *Nutrivisa*. 2024;11(1). <https://doi.org/10.59171/nutrivisa-2024v11e12912>

Filho VC, Yunes RA. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quím Nova*. 1998;21(1):49-73, 171-223.

Shariare MH, Noor HB, Khan JH, Uddin J, Ahamad SR, Altamimi MA, Alanazi FK, Kazi M. Liposomal drug delivery of *Corchorus olitorius* leaf extract containing phytol using design of experiment (DoE): In-vitro anticancer and in-vivo anti-inflammatory studies. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2021;199:111543. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111543>

Silva FC da, editor. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; 1999. p. 49-73, 171-223.

Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5th online ed. Gruver, TX, USA: Texensis Publishing; 2017.

Celestino SMC. Princípios de secagem de alimentos. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados; 2010.

Qing X, Zhao H, Tang Q, Mingmo C, Huang P, Cheng P, Yanh P, Yang XY, Liu X, Zheng YJ, Zeng JG. Systematic identification of flavonols, flavonol glycosides, triterpene and siraic acid glycosides from *Siraitia grosvenorii* using high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry combined with a screening strategy. *J Pharm Biomed Anal.* 2017;138:240-50.

Bramont WB, Leal IL, Umsza-Guez MA, Guedes AS, Alves SCO, Reis JHO, Barbosa JDV, Machado BAS. Comparação da composição centesimal, mineral e fitoquímica de polpas e cascas de dez diferentes frutas. *Rev Virtual Quim.* 2018;10(4).

Oliveira JS, Gomes JMG, Costa JA, Oliveira LL, Alfenas RCG. Increased calcium intake from skimmed milk in energy-restricted diets reduces glycation markers in adults with type 2 diabetes and overweight: A secondary analysis of a randomized clinical trial. *Nutr Res.* 2024;127:40-52. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2024.04.008>

Weaver CM. Next-generation health benefits of maternal calcium supplementation. *Am J Clin Nutr.* 2024;119(6):1377-8.

Patra A, Jha S, Murthy P, Manik SA. Isolamento e caracterização de estigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol) das folhas de *Hygrophila spinosa* T. Anders. *Int J Pharma Sci Res.* 2010;1:95-100.

Amina M, Amna T, Al-Musayeib N, Zabin SA, Hassan MS, Khil MS. Encapsulation of β -sitosterol in polyurethane by sol-gel electrospinning. *Appl Biochem Biotechnol.* 2017;182:624-34.

Zhang Z, Zhang Y, Zhang A, Liu J, Liu T, Zhao J, Zhang S. Flos Sophorae Immaturus extracts: Effects of different extraction solvents on antioxidant, antimicrobial activities and active ingredients. *S Afr J Bot.* 2024;170:358-66. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.05.045>

Coelho MPSS, Pereira IC, Oliveira KG, Oliveira IKF, Rizzo MS, Oliveira VA, Silva FCC, Torres-Leal FC, Sousa JMC. Chemopreventive and anti-tumor potential of vitamin E in preclinical breast cancer studies: A systematic review. *Clin Nutr ESPEN.* 2023;53:60-73. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.11.001>

Bartolini D, Marinelli R, Stabile AM, Frammartino T, Guerrini A, Garetto S, Lucci J, Migni A, Zatini L, Marcantonini G, Rende M, Galli F. Wheat germ oil vitamin E cytoprotective effect and its nutrigenomics signature in human hepatocyte lipotoxicity. *Heliyon.* 2022;8:10748. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10748>

Jiang Q. Different Roles of Tocopherols and Tocotrienols in Chemoprevention and Treatment of Prostate Cancer. *Adv Nutr.* 2024;15:100240.

Khentoul H, Bouzid K, Belkhelfa H, Benhabib F, Bouyahya A, El Idrissi S, Oumokhtar A, Djeridane A. Chemical constituents and HRESI-MS analysis of an Algerian endemic

plant - *Verbascum atlanticum* Batt. - extracts and their antioxidant activity. *Nat Prod Res.* 2020;34(20):3008-12.

Aimofumeh E, Anyasor GN, Esiaba I. *Justicia secunda* Vahl leaf fraction protects against acetaminophen-induced liver damage in rats by alleviating oxidative stress and enhancing membrane-bound phosphatase activities. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2020;10(11):479-89.

Cikoš AM, Kolić T, Bešić E, Kolić B, Kostić A, Dajić-Stevanović Z, Tolić A, Đorđević M, Bogdanović M, Kostić A. Bioprospecting of Coralline Red Alga *Amphiroa rigida* J.V. Lamouroux: Volatiles, Fatty Acids and Pigments. *Molecules.* 2021;26(3):520.

Nafis A, Karami S, Hossain K, Barzegar M, Sahari MA. A comparative study of the in vitro antimicrobial and synergistic effect of essential oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with antimicrobial drugs: New approach for health promoting products. *Antibiotics.* 2020;9(4):190.

Mainasara MM, Salimon J, Hamid AA, Aliyu H, Abdullahi M. Secondary Metabolites, Antioxidant, and Antiproliferative Activities of *Dioscorea bulbifera* Leaf Collected from Endau Rompin, Johor, Malaysia. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021;2021:1-10.

Anuchapreeda S, Mankhetkorn S, Wattanapiromsakul C, Choowongkomol W, Yunchalard S. Antileukemic cell proliferation of active compounds from kaffir lime (*Citrus hystrix*) leaves. *Molecules.* 2020;25(6):1-16.

Sadiq A, Ahmed N, Tariq S, Ullah MF, Khan M, Javed M, Shahid M, Murtaza G. Treating hyperglycemia from *Eryngium caeruleum* M. Bieb: in vitro α -glucosidase, antioxidant, in-vivo antidiabetic and molecular docking-based approaches. *Front Chem.* 2020;8:1-19.

Nokhala A, Farag MA, Fadhl B, Ibrahim T, Sayed A. Investigation of α -glucosidase inhibitory metabolites from *Tetracera scandens* leaves by GC–MS metabolite profiling and docking studies. *Biomolecules.* 2020;10(2):1-17.

Okur ME, Ekmekci A, Kucukcetin A, Gokbulut I, Albayrak G, Yilmazer M, Koseoglu N. In vivo wound healing and in vitro anti-inflammatory activity evaluation of *Phlomis russeliana* extract gel formulations. *Molecules.* 2020;25(11):1-17.

Sathya S, Vishwanath K, Shivakumar HN, Srinivasan BP, Muliya VS, Keshav S. Phytol-loaded PLGA nanoparticle as a modulator of Alzheimer's toxic Ab peptide aggregation and fibrillation associated with impaired neuronal cell function. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2018;46(8):1719-30.

Abdel Aziz SM, Al-Ghamdi A, Eltayeb M, Arisha AH, El-Desoky A. Antihyperglycemic effects and mode of actions of *Musa paradisiaca* leaf and fruit peel hydroethanolic extracts in Nicotinamide/Streptozotocin-induced diabetic rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020;2020:1-12.

Mohd-Salleh S, Kamaruddin M, Mohamed M, Mohamed I, Mokhtar M. Phytochemical screening and cytotoxic effects of crude extracts of *Pereskia bleo* leaves. *J Herbs Spices Med Plants.* 2020;26(3):291-302.

Nityasree BR, Bindu N, Sudhakar M, Suresh S, Srinivas R. Effect of *Solanum lycopersicum* leaf extracts against larvicidal activity of *Aedes aegypti* L. *Biomedicine*. 2020;40(4):467-73.

Epure A, Pârvu AE, Vlase L, Benedec D, Hanganu D, Oniga O, Vlase AM, Ielciu I, Toiu A, Oniga I. Novas abordagens sobre o tratamento anti-inflamatório e propriedades cardioprotetoras da tintura de *Taraxacum Officinale*. *Produtos Farmacêuticos*. 2023;16:358. <https://doi.org/10.3390/ph16030358>

Efthymiopoulos I, Helliera P, Ladommatosa N, Russo-Profili A, Eveleigh A, Aliev A, Kay A, Mills-Lampsey B. Influence of solvent selection and extraction temperature on yield and composition of lipids extracted from spent coffee grounds. *Ind Crops Prod*. 2018;119:49-56. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.008>

Rafínska K, Pomastowski P, Rudnicka J, Krakowska-Sieprowska A, Maruska A, Narkute M, Buszewski B. Effect of solvent and extraction technique on composition and biological activity of *Lepidium sativum* extracts. *Food Chem*. 2019;289(1):1-11.

Freitas ML, Silva FF, Pereira-Freire JA, Rizzo MS, Oliveira FA, Silva FA. Quality characteristics and thermal behavior of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. *Grasas Aceites*. 2018;68(4):220. <https://doi.org/10.3989/gya.0557171>.

Pereira-Freire JA, Rizzo MS, Ferreira DC, Silva FF, Freitas ML, Oliveira FA, Santos EA. Nutritional, physicochemical and structural parameters of *Mauritia flexuosa* fruits and by-products for biotechnological exploration of sustainable goods. *Food Technol Biotechnol*. 2022;60(2):155-65. <https://doi.org/10.17113/ftb.60.02.22.7106>.

Rodrigues TT, Silva RPM, Abreu RMM. O buriti (*Mauritia flexuosa*) como planta medicinal para um melhor envelhecimento. *Rev Cient Saúde*. 2021;3(1):1-7.

Fan Z, Zhang Y, Jiao L, Zhu T, Feng Z, Liu Z, Yang Y, Wang D. *Lycium barbarum* polysaccharides-loaded particulate alum via Pickering emulsion as an adjuvant to enhance immune responses. *Int J Pharm*. 2023;630:122418. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122418>.

Herrera-Marcos L, Martinez-Beamonte R, Arnal C, Barranquero C, Puente-Lanzarote JJ, Herrero-Continente T, Lou-Bonafonte JM, Gonzalo-Romeo G, Mocciaro G, Jenkins B, Surra JC, Rodriguez-Yoldi MJ, Burillo JC, Lasheras R, García-Gil A, Güemes A, Koulmang A, Osada J. Dietary squalene supplementation decreases triglyceride species and modifies phospholipid lipidomic profile in the liver of a porcine model of non-alcoholic steatohepatitis. *J Nutr Biochem*. 2023;112:109207. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2022.109207>.

Wu L, Zhao J, Wu L, Zhang Y, Li J. Simultaneous determination of squalene, tocopherols and phytosterols in edible vegetable oil by SPE combined with saponification and GC-MS. *LWT*. 2022;169:114026. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114026>.

Gref R, Deloménie C, Maksimenko A, Gouadon E, Percoco G, Lati E, Desmaële D, Zouhiri F, Couvreur P. Vitamin C–squalene bioconjugate promotes epidermal

thickening and collagen production in human skin. *Sci Rep.* 2020;10:72704. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72704-1>.

Zhang P, Liu N, Xue M, Zhang M, Xiao Z, Xu C, Fan Y, Liu W, Qiu J, Zhang Q, Zhou Y. Anti-inflammatory and antioxidant properties of squalene in copper sulfate-induced inflammation in zebrafish (*Danio rerio*). *Int J Mol Sci.* 2023;24(18):8518. <https://doi.org/10.3390/ijms24108518>.

Rajamani K, Thirugnanasambandan SS, Natesan C, Subramaniam S, Thangavel B, Aravindan N. Squalene deters drivers of RCC disease progression beyond VHL status. *Cell Biol Toxicol.* 2021;37:611-31. <https://doi.org/10.1007/s10565-020-09566-w>.

Felices MJ, Escusol S, Martinez-Beamonte R, Gascón S, Barranquero C, Sanchez-de-Diego C, Osada J, Rodríguez-Yoldi MJ. LPS-squalene interaction on D-galactose intestinal absorption. *J Physiol Biochem.* 2019;75:329-40. <https://doi.org/10.1007/s13105-019-00682-8>.

Gohil N, Bhattacharjee G, Khambhati K, Braddick D, Singh V. Engineering strategies in microorganisms for the enhanced production of squalene: advances, challenges and opportunities. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019;7:50. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00050>.

CAPÍTULO 03

Artigo 02: Evidências experimentais e clínicas do efeito dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das dislipidemias

Artigo Publicado na Nutrivisa

Qualis: B1

NUTRIVISA

ARTIGO DE REVISÃO

<https://doi.org/10.59171/nutrivisa-2024v11e12912>

EVIDÊNCIAS EXPERIMENTAIS E CLÍNICAS DO EFEITO DOS FITOESTERÓIS E FITOESTANÓIS NA PREVENÇÃO DAS DISLIPIDEMIAS

EXPERIMENTAL AND CLINICAL EVIDENCE OF THE EFFECT OF PHYTOSTEROLS AND PHYTOSTANOLS IN PREVENTING DYSLIPIDEMIAS

MÁRCIA LUIZA DOS SANTOS BESERRA PESSOA¹  MARIA REGINA SANTOS SPÍNDOLA² 
GEYSA MARIA BATISTA LEÃO²  CÁSSIO BRUNO DA SILVA MOURA³  DEIGIANE DE LIMA ROCHA³ 
JOILANE ALVES PEREIRA FREIRE⁴  STELLA REGINA ARCANJO MEDEIROS^{*5} 

¹Mestre e Docente do Departamento de Nutrição, a Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil

Nutricionista pela Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil

²Discente do Curso de Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil

⁴Doutora em Biotecnologia de Saúde, Docente do Departamento de Nutrição da

⁵Doutoranda em Biotecnologia/Renorbio, Docente do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil

*Autor Correspondente: stellaarcanjo@yahoo.com.br

Evidências experimentais e clínicas do efeito dos fitoesteróis e fitoestanois na prevenção das dislipidemias

Experimental and clinical evidence of the effect of phytosterols and phytostanols in preventing dyslipidemias

Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa
Mestre em Alimentos e Nutrição pela Universidade Federal do Piauí
Docente do Departamento de Nutrição
da Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí Brasil
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8585-4264>
E-mail: marcialuiza@ufpi.edu.br

Maria Regina Santos Spíndola
Nutricionista pela Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6570-9518>
E-mail: mariaregina987123@gmail.com

Geysa Maria Batista Leão
Nutricionista pela Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-7535-2286>
E-mail: geysa_maria06@ufpi.edu.br

Cássio Bruno da Silva Moura
Discente do Curso de Nutrição pela
Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7454-2529>
E-mail: cassiomouradb@ufpi.edu.br

Deigiane de Lima Rocha
Discente do Curso de Nutrição pela
Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2719-8323>
E-mail: deigianelima01@ufpi.edu.br

Joilane Alves Pereira-Freire
Doutora em Biotecnologia de Saúde pela Rede Nordeste de
Biotecnologia-RENORBIO
Docente efetiva do Departamento de Nutrição da
Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0596-934X>
E-mail: joilane@ufpi.edu.br

Stella Regina Arcanjo Medeiros
Doutora em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia-RENORBIO
Docente efetiva do Departamento de
Nutrição da Universidade Federal do Piauí, Picos, Piauí, Brasil
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0764-9406>
E-mail: stellaarcanjo@yahoo.com.br
*(85) 99224-0173

RESUMO

A dislipidemia é uma doença caracterizada por níveis plasmáticos elevados de colesterol total e LDL-C, levando a um risco de desenvolvimento de doença cardiovascular aterosclerótica. Os fitoesteróis, têm sido amplamente estudados no sentido de elucidar sua ação sobre os níveis lipídicos e assim serem incluídos no tratamento nutricional nas dislipidemias. O estudo objetivou identificar as evidências experimentais e clínicas dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das dislipidemias, construído a partir da questão norteadora: “Quais as evidências experimentais e clínicas da ação dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das dislipidemias?” Foi realizada uma revisão integrativa da literatura com buscas nas bases de dados Pubmed, LILACS, Scielo e *Web of Science*, considerando artigos dos últimos 5 anos (2019-2023). A partir dos critérios de inclusão e exclusão, da análise dos artigos que responderam à pergunta norteadora e que apresentaram em seus resultados considerações sobre as evidências clínicas e experimentais na prevenção das dislipidemias, selecionou-se 10 trabalhos para compor o artigo. Os estudos evidenciaram que a redução do colesterol total e do LDL-C ocorreu devido à sua absorção diminuída e ao aumento da eliminação do mesmo nas fezes. Pode-se concluir que os fitoesteróis e fitoestanóis são compostos bioativos que atuam na redução de dislipidemias, e as vias de administração podem ser por suplementação usando-os isoladamente, alimentos com propriedades funcionais adicionados de esteróis vegetais e ou alimentos *in natura* ricos nessas substâncias. Sugere-se que o consumo desses compostos seja estimulado contribuindo para a redução das dislipidemias e das doenças cardiovasculares.

Palavras-chaves: Fitoesteróis, Compostos Bioativos, Dislipidemias, Doenças Crônicas Não Transmissíveis.

ABSTRACT

Dyslipidemia is a disease characterized by elevated plasma levels of total cholesterol and LDL-C, leading to a risk of developing atherosclerotic cardiovascular disease. Phytosterols have been widely studied in order to elucidate their action on lipid levels and thus be included in the nutritional treatment of dyslipidemia. The study aimed to identify the experimental and clinical evidence of phytosterols and phytostanols in the prevention of dyslipidemia, based on the guiding question: “What is the experimental and clinical evidence of the action of phytosterols and phytostanols in the prevention of dyslipidemia?” An integrative literature review was carried out with searches in the Pubmed, LILACS, Scielo and Web of Science databases. Based on the inclusion and exclusion criteria, the analysis of the articles that answered the guiding question and that presented in their results considerations about the clinical and experimental evidence in the prevention of dyslipidemia, 10 works were selected to compose the article. Studies showed that the reduction in total cholesterol and LDL-C occurred due to their reduced absorption and increased elimination in feces. It can be concluded that phytosterols and phytostanols are bioactive compounds that act to reduce dyslipidemia, and the routes of administration can be through supplementation using them alone, foods with functional properties added with plant sterols and or natural foods rich in these substances. It is suggested that the consumption of these compounds be stimulated, contributing to the reduction of dyslipidemia and cardiovascular diseases.

Keywords: Phytosterols, Bioactive Compounds, Dyslipidemias, Chronic Noncommunicable Diseases.

INTRODUÇÃO

As dislipidemias estão entre as condições crônicas mais comuns, detectadas e tratadas. Elas envolvem um desequilíbrio dos níveis de colesterol, incluindo colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) no sangue. Essas lipoproteínas regulam a quantidade de colesterol no corpo aumentando o risco de eventos cardiovasculares, devido ao acúmulo de placas nas artérias e está associado a um risco aumentado de Doença Cardiovascular Aterosclerótica (DCVA) e acidente vascular cerebral (Izar *et al.*, 2023). Outras formas de dislipidemias incluem hipertrigliceridemia, bem como a dislipidemia mista em que os níveis de colesterol e triglicerídeos estão elevados (Rosenson, 2021; Lv *et al.*, 2023).

De acordo com o último relatório da Organização Mundial da Saúde com dados coletados entre 2000-2019 (OMS), a prevalência global de colesterol total plasmático elevado entre adultos ≥ 25 anos foi de aproximadamente 39% em 2008 (WHO, 2021). Mais de 30% das mortes por doença cardíaca isquêmica ou acidente vascular cerebral isquêmico foram atribuíveis ao aumento do LDL plasmático (Song e Rosenson, 2024). Em um estudo transversal, realizado no estado brasileiro de Minas Gerais, encontrou-se elevada prevalência de dislipidemias, aproximadamente 65% demonstrando que este é um grave problema de saúde pública, no Brasil e no mundo (Valença *et al.*, 2021).

As causas primárias são aquelas nas quais o distúrbio lipídico é de origem genética e as secundárias são decorrentes de estilo de vida inadequado, relacionados às doenças crônicas como obesidade e diabetes tipo 2 (Izar *et al.*, 2021; Berberich & Hegele, 2022). Importante enfatizar que a genética também pode desempenhar um papel no desenvolvimento de colesterol elevado na forma de Hipercolesterolemia Familiar (HF). Esta é uma doença autossômica dominante, principalmente por defeito do gene LDLR que codifica o receptor de LDL. O diagnóstico é estabelecido por critérios clínicos e laboratoriais em pacientes com níveis de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDLc) superiores a 190 mg/dL; e pode ser confirmado por testes genéticos que determinam a mutação (Song & Rosenson, 2024; Rosenson, 2021; Izar *et al.*, 2021).

O tratamento da dislipidemia tem por objetivo final a redução de eventos cardiovasculares, bem como a prevenção de pancreatite aguda associada à hipertrigliceridemia grave (BRASIL, 2020), a partir de tratamentos convencionais com terapias medicamentosas, associado à mudanças do estilo de vida e medidas terapêuticas dietéticas significantes que incluem a substituição parcial de ácidos graxos saturados por mono e poliinsaturados, bem como o consumo de fitoesteróis *in natura* ou mesmo por intermédio de suplementação. Os ácidos graxos trans também devem ser excluídos da dieta por aumentarem a concentração plasmática de LDL-c e induzirem intensa lesão aterosclerótica (Duan *et al.*, 2022).

De acordo com a II Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar, publicada em 2020, a suplementação de fitoesteróis deve ser iniciada somente após os cinco anos de idade, em doses de 1,2 a 1,5 gramas por dia, e deve ser monitorada regularmente para avaliar a eficácia e segurança do tratamento (Santos *et al.*, 2020). Acredita-se que o fitoesterol reduza o nível de colesterol através de uma inibição competitiva da absorção de colesterol e da modulação de genes envolvidos no metabolismo do colesterol em enterócitos e hepatócitos (Lv *et al.*, 2023; Feng *et al.*, 2020).

Os esteróis vegetais, também conhecidos como fitoesteróis, são triterpenos encontrados em plantas e os estudos indicam que o consumo destes compostos resulta numa redução do nível de colesterol em virtude da inibição da absorção intestinal e

aumento da excreção nas fezes (Lv *et al.*, 2023; Duan *et al.*, 2022). No entanto, a contribuição de vários fitosteróis e diferentes mecanismos envolvidos na redução do colesterol ainda precisam ser explorados. Diante do exposto, objetiva-se com a elaboração desta revisão integrativa identificar as evidências experimentais e clínicas atuais da ação dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção da dislipidemia.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se uma revisão integrativa de literatura com o objetivo de responder a seguinte questão norteadora: “Quais as evidências experimentais e clínicas da ação dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das hiperlipidemias?”. A busca nas bases de dados foi realizada em junho de 2023, nas seguintes bases de dados: MEDLINE/PubMed, (*Medical Literature Analysis and Retrieval Sistem online*), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), SCIELO e SCIENCE DIRECT. Os critérios de inclusão do estudo consistiram em artigos originais, publicados nos últimos 5 anos (2019-2023) disponibilizados na íntegra; publicados nos idiomas português e inglês ; que responderam à pergunta norteadora e que apresentaram em seus resultados considerações sobre os efeitos dos fitoesteróis e fitoestanóis na redução das hiperlipidemias.

Os critérios de exclusão foram, artigos que não responderam a questão norteadora, que focaram em outras temáticas, teses, cartas, editoriais, dissertações, resumos de eventos científicos, artigos duplicados e outras revisões. Utilizou-se, como descritores controlados identificados nos Descritores em Ciência da Saúde (DECs), Medical Subject Headings (MESH) os termos: “Dyslipidemias”, “Combined Familial Hyperlipidemias”, “Hyperlipoproteinemias”, “Hypertriglyceridemias”, assim como “Phytosterols” e “Phytosteranols” combinadas entre si, utilizando-se os operadores booleanos AND e OR.

Foi realizada a leitura dos títulos e dos resumos de forma independente e concomitante, entre dois autores, para assegurar que os textos contemplavam a pergunta norteadora e atendiam os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos. Quando havia dúvidas, optou-se por incluir, provisoriamente, a publicação e decidir sobre sua seleção apenas após a leitura na íntegra. Ao final desse processo, selecionou-se a amostra de artigos para construir essa revisão, ilustrada no fluxograma abaixo.

A análise dos dados da revisão foi elaborada de forma descritiva. Utilizou-se um quadro elaborado pelos autores, para a extração e a síntese dos dados de cada estudo, incluído na revisão. Este quadro permitiu a organização e comparação dos dados de acordo com as suas diferenças e similaridades e norteados pela pergunta da revisão, os quais foram avaliados criteriosamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma busca inicial permitiu encontrar 917 artigos referentes ao tema do estudo, obtendo-se o maior número na base de dados SCIENCE DIRECT com 701 publicações e na SCIELO, foram observados apenas 50 artigos (Quadro 1). Em seguida, seguiu-se com a exclusão de 160 artigos duplicados e 84 que estavam em espanhol. Depois da leitura exploratória dos títulos e resumos foram excluídos 594, restando apenas 79 artigos que foram lidos na íntegra e após avaliação minuciosa, foram escolhidos 10

estudos, por apresentarem aspectos que respondiam à questão norteadora e se enquadrar na temática. A Figura 1 apresenta o fluxograma das etapas de busca e seleção dos estudos, adaptado do PRISMA (Moher et al., 2015).

O que se percebe após a leitura criteriosa das pesquisas científicas para a escrita da presente revisão integrativa, é que os dados sobre o efeito hipolipemiante dos fitosteróis são provenientes de estudos de intervenção, realizados com um número relativamente grande de participantes e, de uma forma geral, com resultados consistentes. Do total, cinco (05) eram estudos de intervenção com humanos, quatro (04) com animais e um (01) realizado em células (*in vitro*), como se observa no Quadro 2.

Os efeitos dos fitoesteróis no perfil lipídico estão sendo investigados há muito tempo, com inúmeros estudos indicando de forma consistente que os alimentos enriquecidos com esses compostos bioativos reduzem as concentrações de LDL-C. De acordo com as principais sociedades científicas nacionais e internacionais, o uso regular de 2 g/dia de fitosteróis sob supervisão pode ser recomendado para redução de 10% no nível de LDL-C (Duan *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2020; Cabral; Klein, 2017).

É importante dizer que os fitoesteróis (esteróis e estanois vegetais), são esteróides naturais amplamente encontrados em diferentes partes das plantas, incluindo raízes, caules, folhas, flores, frutos e grãos integrais. Atualmente, as funções fisiológicas dos fitoesteróis são antioxidantes, antiinflamatórios e sua função mais estudada está relacionada à absorção de colesterol, bem como a concentração de LDL-C (Salehi *et al.*, 2020). Além das funções fisiológicas acima, os fitoesteróis também desempenham muitos outros papéis na promoção da saúde humana, como melhorar a resistência à insulina, o metabolismo lipídico (Pereira-Freire *et al.*, 2018), reduzir o risco de câncer e doença de Alzheimer (Zhang *et al.*, 2017).

Segundo estudo de Pereira-Freire *et al.* (2022) o buriti (*Mauritia flexuosa*) – reduziu de forma significativa os níveis de triglicerídeos e colesterol total nas três partes da planta avaliadas (polpa, casca e endocarpo) e também conseguiu elevar o HDL por meio da casca na dose de 600 mg/kg e destacou-se quanto ao valor nutricional e funcional por apresentar o maior teor de fósforo, ferro e cromo, além dos maiores teores de ácidos graxos poli-insaturados e de ser a única fração do fruto a apresentar fitoesteróis em sua composição. Além disso, a casca de buriti liofilizada apresentou maior teor de β -sitosterol e de estigmasterol, quando comparadas às quantidades presentes em polpas de frutas exóticas como mucujá (*Couma rigida* M.) que apresenta 64,3 mg de β -sitosterol e 12 mg de estigmasterol, açaí (*E. oleracea* M) com 94 mg de β -sitosterol e 12 mg de estigmasterol, inajá (*Maximiliana maripa* D.) com 79,5 mg de β -sitosterol e 7,5 mg de estigmasterol e uxi (*Endopleura uchi* C.) que apresenta 88 mg de β -sitosterol e 12 mg de estigmasterol).

Os fitoesteróis são naturalmente encontrados em frutas, vegetais, óleos vegetais, castanhas e sementes e podem também ser adicionados a alimentos como margarinas, sucos, iogurtes e cereais. Além do uso em alimentos enriquecidos, também é possível sua suplementação (Nogueira-de-Almeida *et al.*, 2017). Na presente revisão, nos estudos com humanos, observou-se que os autores utilizaram vários alimentos enriquecidos com esteróis vegetais como veículos, dentre eles, óleos, bebidas lácteas, leite de soja e pasta enriquecida. Nos trabalhos experimentais *in vivo*, diversos animais fizeram parte dos protocolos de estudo como: ratos, camundongos, hamsters e peixes (corvina amarela), que tiveram suas dietas alteradas em composição e percentual de nutrientes, com adição concomitante ou não de fitoesteróis, conforme demonstrado no Quadro 2.

A suplementação de fitoesteróis para a redução dos níveis de colesterol e LDL-C, de acordo com os estudos mencionados neste trabalho, mostrou-se eficiente, de forma a promover uma redução variando entre 5,5% a 21,6% dos níveis de colesterol e de 5,96 a 42,6% no LDL-colesterol. O mecanismo subjacente a esse efeito hipocolesterolêmico é a redução da absorção de colesterol do lúmen intestinal na circulação por uma competição entre estanois/esteróis vegetais e colesterol intestinal pela incorporação em micelas mistas (Li *et al.*, 2022; Nunes *et al.*, 2022).

Os fitoesteróis são mais hidrofóbicos que o colesterol, dessa forma, agrupa-se melhor no interior da micela (Li *et al.*, 2022; Plat; Nicholson; Mensink, 2005). Assim, impedem a incorporação do colesterol nas micelas, diminuindo sua biodisponibilidade e o fluxo de colesterol do lúmen intestinal para a circulação e aumentando a síntese hepática de colesterol (Lv *et al.*, 2023; Smet; Mensink; Plat, 2012). O colesterol livre que não é então incorporado no interior das micelas é eliminado por meio das fezes, resultando na diminuição da absorção de colesterol nos enterócitos. O efeito da absorção reduzida e da síntese aumentada de colesterol é uma redução nas concentrações séricas de LDL (Lv *et al.*, 2023).

Estudos indicam que o consumo diário de uma bebida de soja enriquecida com fitoesteróis pode ser um meio simples e de custo relativamente baixo para reduzir o colesterol LDL em indivíduos. A bebida de soja enriquecida com fitoesteróis diminuiu significativamente o colesterol LDL em 5,96% com uma mediana de 6,74% em comparação com o valor basal, resultando em uma redução significativa de 4,70% com mediana de 5,20% em comparação com placebo. Em contraste, não houve alterações significativas em outros parâmetros lipídicos, glicemia, pressão arterial, peso corporal ou circunferência da cintura (Chau *et al.*, 2020).

Outra pesquisa utilizando leite de soja, os autores investigaram se os fitoesteróis (PS) plasmáticos se relacionavam com a taxa de síntese de colesterol do corpo. Durante quatro semanas foram distribuídos aleatoriamente entre os voluntários do estudo 400 mL/dia de leite de soja (fase controle) ou leite de soja + PS para serem consumidos no período da pesquisa (Nunes *et al.*, 2022). O tratamento com fitoesteróis reduziu a concentração plasmática de colesterol total (5,5%), LDL-C (7,6%), triglicerídeos (13,6%) e apolipoproteína B (apo B) (6,3%), sem alterar o colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C). Os que absorveram mais fitoesteróis responderam melhor, entregando menos colesterol endógeno no lúmen intestinal, sendo assim a existência de casos responsivos aos fitoesteróis justifica plenamente a sua utilização como aditivo alimentar (Salehi *et al.*, 2020; Nunes *et al.*, 2022).

Corroborando com o estudo anterior, verifica-se que a utilização de uma pasta enriquecida com ésteres de estanol vegetal (3,0g de estanois vegetais/d) ou a mesma pasta sem adição de ésteres de estanol vegetal por 6 meses na alimentação, diminui a suscetibilidade à agregação de partículas de LDL, modificando o lipidoma de LDL. O resultado primário do estudo original foi que houve redução da rigidez arterial em pequenas artérias em ambos os sexos e em homens também em grandes artérias. O desfecho secundário revelou que em comparação com os controles, o consumo de éster de estanol vegetal reduziu as concentrações de LDL-C em 10,2% (Ruuth *et al.*, 2020).

Os ésteres de estanol, presentes na pasta, diminuem a ligação de LDL às moléculas de proteoglicanos, reduzindo assim os níveis de LDL na circulação e restringem a suscetibilidade à agregação de LDL, onde irão induzir mudanças qualitativas nos lipídios de LDL. Entretanto, essas mudanças nas propriedades pró-aterogênicas do LDL foram mais aparentes em indivíduos magros (Ruuth *et al.*, 2020).

Em um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, 260 indivíduos saudáveis com concentrações de TG no sangue modestamente elevadas

($\geq 1,4$ mmol/L) e LDL-C ($\geq 3,4$ mmol/L) consumiram o placebo ou a distribuição de intervenção com um spread durante quatro semanas. O *spread* de intervenção continha 2,0 g/dia de fitoesteróis e 1,0 g/dia de ácido eicosapentaenóico (EPA) + ácido docosahexanóico (DHA) de óleo de peixe. Essa intervenção levou a reduções significativas e clinicamente relevantes nas concentrações séricas de TG, LDL-C e outras concentrações de lipídios no sangue (Bloom *et al.*, 2019).

Essa intervenção mostrou que, a ingestão regular de uma pasta de baixo teor de gordura com 2,0 g/dia de fitoesteróis e 1,0 g/dia de EPA/DHA durante 4 semanas levaram a um benefício duplo de lipídios sanguíneos significativo e clinicamente relevante com base em uma diminuição de 10,6% nos TG e 5,2% no LDL-C, em indivíduos saudáveis com discreta elevação concentrações sanguíneas de TG e LDL-C. Essa abordagem dietética poderia, portanto, contribuir como parte de uma dieta e estilo de vida saudáveis para manter baixas concentrações de TG e LDL-C e, assim, ajudar a gerenciar o risco de desenvolver Doenças Cardiovasculares (DCV) (Bloom *et al.*, 2019).

Em outro estudo clínico, investigou-se a combinação de fitoesteróis (PS) e curcumina (CC) em um novo alimento (pão) no perfil lipídico plasmático em indivíduos hipercolesterolêmicos. No estudo fatorial 2×2 , duplo-cego, controlado por placebo, os participantes foram randomizados para receber pão fortificado com placebo (PL), 2,3 g de PS (PS), 228 mg de curcumina (CC) ou uma combinação de 2,3 g de PS e 228 mg CC (PS-CC) diariamente durante quatro semanas (Ferguson *et al.*, 2019).

O PS-CC reduziram significativamente o Colesterol Total (-0,52 mmol L⁻¹, $p < 0,0001$), o LDL-C (-0,49 mmol L⁻¹, $p < 0,0001$) e o risco de DCV (-1,1% absoluto, $p = 0,0005$) em comparação com o Grupo PL-C. O risco de DCV no grupo PS-CC reduziu significativamente (-12,7%) em comparação com o grupo PL-C ($p = 0,0005$). HDL-C e TG permaneceram inalterados. Com isso, o estudo demonstrou que o consumo regular de pão enriquecido com PS, com ou sem curcumina, reduz o colesterol no sangue; no entanto, a curcumina por si só não influenciou os lipídios sanguíneos. E que o pão pode ser um meio conveniente de fornecer PS com maior conformidade para reduzir a concentração de colesterol no sangue (Ferguson *et al.*, 2019).

Nos estudos experimentais com animais foram avaliados o efeito dos esteróis e estanois vegetais na alimentação dos mesmos, que foram introduzidos de forma complementar, incrementando assim sua dieta básica. No primeiro estudo os ratos machos foram alimentados com uma dieta básica ou uma das três dietas experimentais: dieta rica em colesterol e as duas dietas contendo 0,5% de ergosterol e 1,5% de ergosterol, respectivamente, por 8 semanas. Os resultados demonstraram que a alimentação com dietas contendo 0,5% e 1,5% de ergosterol diminuiu o colesterol total em 19,4–21,6%, o LDL-C em 42,0–42,6% e a relação CT/HDL-C em 7,1–10,5%. Isso foi acompanhado por uma redução de 46,8–53,2% no colesterol hepático e aumento de colesterol fecal 51,0–59,3% (He *et al.*, 2019).

Portanto o ergosterol é uma substância cardioprotetora, pois possui um potencial de redução do colesterol. Essa redução é mediada pela inibição da absorção intestinal e pela promoção da excreção fecal do colesterol com regulação da expressão hepática de SREBP-2, LDL-R e CYP7A1, isso porque o consumo de ergosterol pode melhorar de maneira oportuna os perfis lipídicos séricos, que resultam na redução dos níveis de CT sérico, LDL-C, relação CT/LDL-C e colesterol hepático (He *et al.*, 2019). Em outro experimento realizado com hamsters, que objetivou explorar o metabolismo do colesterol modulado por esterois vegetal, concordou com os resultados apresentados acima de He *et al.*, 2019. Os autores dividiram os animais em grupo controle, grupo de dieta rica em gordura (HFD) e três grupos de tratamento alimentados com HFD

suplementados com vários esteróis de soja (SS) em três concentrações (0,1%, 0,5% e 1%); e consistentemente, os esteróis de soja apresentaram bons resultados e regularam positivamente os genes associados à absorção de colesterol e excreção de esteróis, e ainda alteraram visivelmente a microbiota intestinal (Li *et al.*, 2019).

Deve-se enfatizar que alguns pesquisadores defendem fortemente que a suplementação dietética com esteróis de soja pode regular o metabolismo, o transporte, a síntese do colesterol e a excreção de esteróis, sintetizando uma modulação na expressão de vários genes relacionados a microbiota intestinal e ao metabolismo do colesterol/esterol. Entende-se que com essa suplementação, haja uma melhora no mecanismo regulatório do metabolismo do colesterol mediado por esteróis vegetais (Yang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019).

Um estudo experimental em peixes (corvina amarela) alimentados com dieta rica em lipídios, os autores investigaram os efeitos da suplementação de fitoesteróis no desempenho de crescimento, composição corporal, índices bioquímicos séricos e metabolismo lipídico. E obtiveram resultados significativos, onde os níveis de lipídios hepáticos e séricos foram significativamente menores nas dietas com 0,5% e 1,0% de fitoesteróis do que na dieta controle. Peixes alimentados com dietas com 0,5% e 1,0% de fitoesteróis apresentaram atividades significativamente maiores de catalase e superóxido dismutase, e menor teor de malonaldeído no fígado do que aqueles na dieta controle (He *et al.*, 2022).

No intestino, a expressão de genes de absorção de lipídeos (SRBI e NPC1L1) e esterificação (ACAT, MTP e APOB100) em peixes alimentados com 0,5% de fitoesteróis foram significativamente menores do que aqueles na dieta controle, enquanto a expressão de genes de colesterol que reverte o transporte (ABCA1, ABCG5 e ABCG8), em dietas com fitoesteróis, foram significativamente maiores do que na dieta controle. No fígado, em comparação com a dieta controle, suplementada com 0,5% de fitoesteróis reduziu significativamente a expressão de genes da síntese lipídica (SREBP1, ACC, FAS, SCD1, DGAT2, SREBP2, HMGCR e DHCR7) enquanto a expressão de genes do metabolismo lipídico (PPARA, ACO, CPT1, ATGL e CYP7A1) e transporte reverso de colesterol (ABCG5 e ABCG8) foram significativamente regulados positivamente. Assim, o fitoesterol dietético pode reduzir os efeitos adversos da dieta rica em lipídios na corvina amarela pela regulação benéfica de genes relacionados ao metabolismo lipídico no intestino e no fígado, e o nível ideal de suplemento de fitoesterol na dieta rica em lipídios foi de aproximadamente 0,5% (He *et al.*, 2022).

Um último estudo experimental, realizado com camundongos, objetivou investigar o mecanismo pelo qual os fitoesteróis regulam o metabolismo do colesterol, com uma dieta rica em gordura. Foi constatado que o tratamento com fitoesteróis reduziu o acúmulo de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG) e colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) no soro de camundongos, enquanto aumentou os níveis séricos de colesterol de lipoproteína de alta densidade. (HDL-C) (Lv *et al.*, 2023).

Comparado com camundongos com dieta rica em gordura, o fitoesterol não apenas aumentou a atividade antioxidante do fígado, mas também regulou os níveis de expressão de mRNA de enzimas e receptores relacionados ao metabolismo do colesterol. Os resultados da análise de sequenciamento de 16S rRNA mostraram que o fitoesterol modulou a microbiota intestinal de camundongos. Os fitoesteróis reduziram a abundância relativa de *Lactobacillus* e outras microbiotas intestinais produtoras de hidrólise de sais biliares (BSH-) em camundongos com dieta rica em gordura, que estão potencialmente relacionados ao metabolismo do colesterol. Estas descobertas explicam

parcialmente os mecanismos pelos quais os fitoesteróis regulam o metabolismo do colesterol. Isto implica que a regulação da microbiota intestinal seria um alvo potencial para o tratamento das hiperlipidemias (Lv *et al.*, 2023).

Finalmente, em um estudo *in vitro*, a inibição da absorção de colesterol em células de adenocarcinoma colorretal humano (Caco-2) por ergosterol, acetato de ergosterol, β -sitosterol, estigmasterol, campesterol e estelasterol foi sistematicamente avaliada. Este efeito foi amplamente mediado através da redução da biossíntese de colesterol (HMGCS1); meditando sobre as proteínas-chave no transporte e metabolismo do colesterol (NPC1L1, ABCG5/ABCG8); interrompendo a conversão do colesterol em ésteres de colesterol (ACAT2). Os resultados indicaram que sua atividade redutora de colesterol pode estar correlacionada com o grupo funcional (hidroxila ou éster) na posição C-3 (ergosterol < acetato de ergosterol) e os grupos funcionais na posição C-5 dos fitoesteróis (ergosterol > estelasterol) (Yuan *et al.*, 2020).

O acetato de ergosterol foi mais eficaz que o próprio ergosterol, onde foi observado que sua atividade redutora de colesterol pode estar relacionada com o grupo funcional hidroxila ou éster na posição C-3 dos fitoesteróis. Os efeitos inibitórios da absorção de colesterol e expressão de proteínas no ergosterol (com dupla ligação em C-5) foram maiores do que os do estelasterol (sem dupla ligação em C-5), o que sugere que sua atividade redutora de colesterol também está correlacionada com grupos funcionais na posição C-5 dos fitoesteróis (Yuan *et al.*, 2020).

De acordo com os resultados encontrados é possível sugerir que os alimentos enriquecidos com fitoesteróis incluídos na rotina alimentar, associados à mudança do estilo de vida, tiveram resultados favoráveis na redução dos níveis séricos de parâmetros bioquímicos cardiovasculares, reduzindo assim as dislipidemias e consequentemente o risco de doenças cardiovasculares.

CONCLUSÃO

Os estudos ressaltaram com evidências experimentais e clínicas atuais, a eficiência dos fitoesteróis na prevenção da dislipidemia adquirida por maus hábitos, bem como a hipercolesterolemia familiar, e outras doenças como as cardiovasculares. Além disso, pode-se concluir que os fitoesteróis e fitoestanóis são compostos bioativos que atuam na redução de dislipidemias, e as vias de administração podem ser por suplementação usando-os isoladamente, alimentos com propriedades funcionais adicionados de esteróis vegetais e ou alimentos *in natura* ricos nessas substâncias, e o mecanismo de atuação ocorre por diminuição dos níveis de colesterol no sangue ao reduzir a absorção e aumentar a eliminação pelas fezes.

Espera-se que esse estudo possa contribuir para a disseminação do emprego dos fitoesteróis e fitoestanóis como agentes redutores dos níveis de colesterol e, fazer dessas substâncias bioativas produtos de interesse para a prevenção das dislipidemias na população, visto que o consumo destes se apresenta abaixo do ideal. São necessários mais estudos nessa área para elucidar os efeitos dos fitoesteróis em outros níveis séricos como os triglicerídeos, já que os estudos encontrados foram contraditórios.

Os fitoesteróis e fitoestanóis são compostos vegetais que têm sido estudado por suas potenciais propriedades benéficas para a saúde, especialmente no que diz respeito à redução do colesterol LDL. Além disso, ressalta-se a importância de se incentivar o consumo de alimentos ricos em fitoesteróis e fitoestanóis, como parte de uma dieta equilibrada, para reduzir o risco de doenças cardíacas e melhorar os níveis de colesterol.

Apesar de todo o conhecimento sobre os benefícios que os fitoesteróis apresentam, é de grande importância destacar que para se obter benefícios significativos

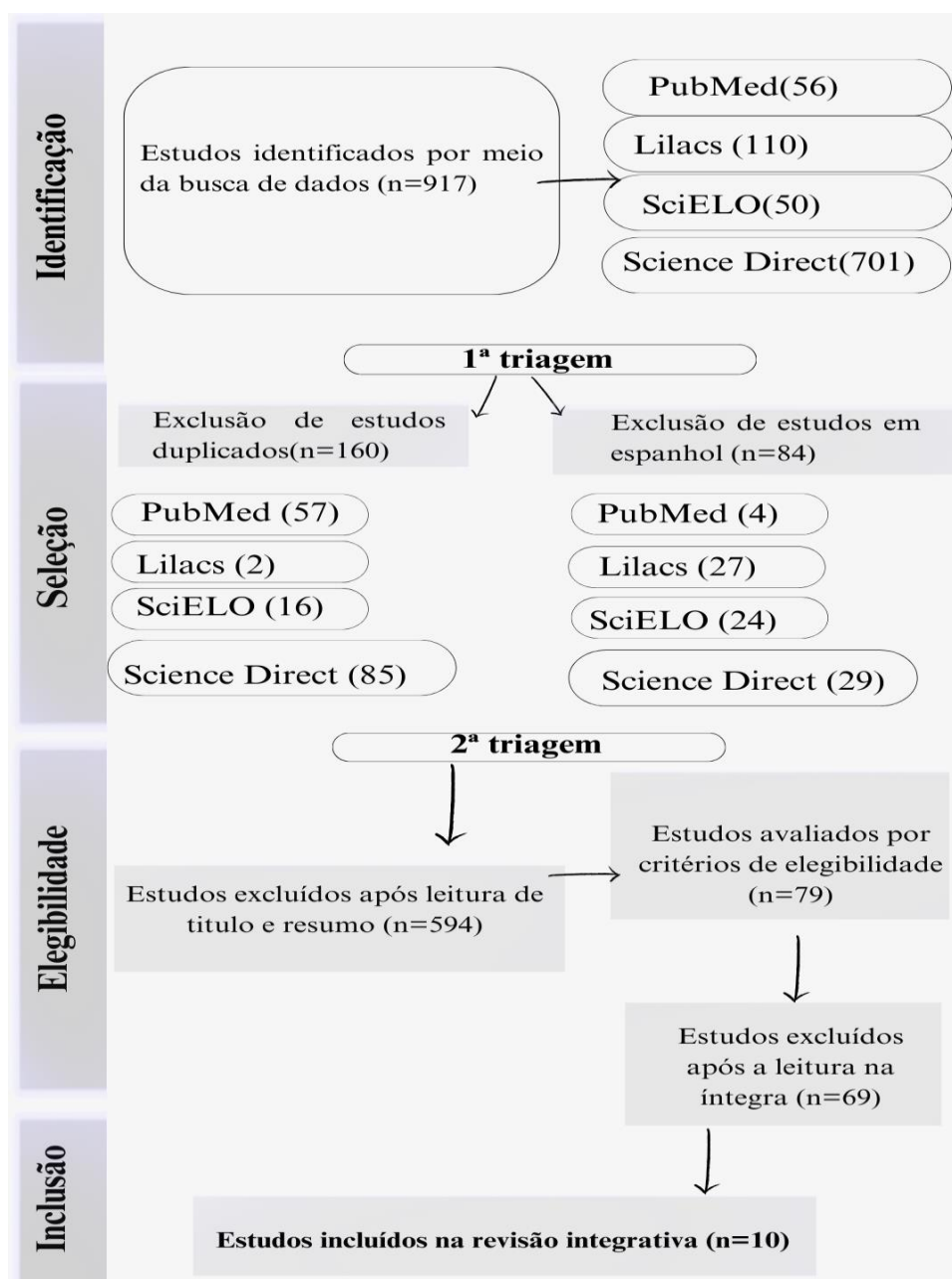
na redução do colesterol LDL, pode ser necessário uma ingestão relativamente alta de fitoesteróis/fitoestanóis, muito além do que seria consumido normalmente através da dieta. Isso pode exigir o consumo de suplementos ou alimentos fortificados, o que pode não ser prático para todas as pessoas e assim configurar uma limitação,

Embora os estudos, sobre fitoesteróis/fitoestanóis, tragam resultados seguros para a maioria das pessoas quando consumidos em quantidades moderadas, ainda não há uma compreensão completa de seus efeitos a longo prazo. Mais pesquisas são necessárias para avaliar completamente sua segurança e eficácia num período maior de consumo. Também é importante ressaltar que os fitoesteróis/fitoestanóis não são uma solução isolada para problemas de colesterol ou saúde cardíaca. Eles funcionam melhor quando combinados com outras estratégias de estilo de vida saudável

Em suma, os fitoesteróis/fitoestanóis têm o potencial de serem úteis na redução do colesterol LDL e na promoção da saúde cardiovascular, mas é importante considerar suas limitações e integrá-los como parte de um plano de saúde geral mais abrangente.

ANEXOS

Figura 1. Fluxograma da seleção dos estudos, adaptado do PRISMA (Moher et al., 2015).



Quadro 1- Resultados das pesquisas realizadas nas bases de dados selecionadas

Descritores	PUBMED/ MEDLINE	LILACS	SCIELO	SCIENCE DIRECT	Total
Dyslipidemias and Phytosterols	3	0	0	592	595
Dyslipidemias and Phytostanols	1	0	0	24	25
Dyslipidemias and Phytosterols and Phytostanols	1	0	0	23	24
Phytosterols or Phytostanols and Dyslipidemias	26	0	0	23	49
Dyslipidemias and Phytosterols or Phytostanols	7	26	32	23	88
Combined familial hyperlipidemia and Phytosterols or Phytostanols	5	2	0	1	8
Hyperlipoproteinemias and Phytosterols or Phytostanols	6	17	5	0	28
Hypertriglyceridemia and Phytosterols or Phytostanols	7	65	13	15	100
Total	56	110	50	701	917

Quadro 2 - Estudos selecionados conforme pergunta norteadora sobre as evidências experimentais e clínicas da ação dos fitoesteróis e fitoestanois nas dislipidemias.

Autoria Ano	Tipo de Estudo	Objetivo	Metodologia	Resultados e conclusão
Bloom <i>et al.</i> , 2019	Estudo randomizado duplo-cego	Investigar os efeitos redutores de triglicerídeos (TG) e LDL-Colesterol (LDL-C) de um spread adicionado de esteróis vegetais e óleo de peixe em comparação com um spread placebo.	Após um período de introdução de placebo de 2 semanas, 260 indivíduos saudáveis com concentrações de TG no sangue modestamente elevadas ($\geq 1,4$ mmol/L) e LDL-C ($\geq 3,4$ mmol/L) consumiram o placebo ou a distribuição de intervenção por 4 semanas. O spread de intervenção continha 2,0 g/dia de esteróis vegetais e 1,0 g/dia de ácido eicosapentaenóico (EPA) + ácido docosahexanóico (DHA) de óleo de peixe.	O consumo do spread de intervenção por quatro semanas levou a reduções significativas e clinicamente relevantes nas concentrações séricas de TG, LDL-C e outras concentrações de lipídios no sangue.
Ferguson <i>et al.</i> , 2019	Estudo de Intervenção randomizada, duplo-cego	Investigar os efeitos da combinação de fitoesteróis e curcumina em um novo alimento (pão) no perfil lipídico plasmático em indivíduos hipercolesterolêmicos.	Os participantes foram randomizados para receber pão fortificado com placebo (PL), 2,3 g de fitoesteróis (PS), 228 mg de curcumina (CC) ou uma combinação de 2,3 g de PS e 228 mg CC (PS-CC) diariamente durante quatro semanas.	O consumo regular de pão enriquecido com PS, com ou sem curcumina, reduz o colesterol no sangue; no entanto, a curcumina por si só não influenciou os lipídios sanguíneos.
He <i>et al.</i> , 2019	Ensaio experimental randomizado;	Investigar o efeito redutor do ergosterol sobre o colesterol e seu potencial mecanismo.	32 ratos machos foram divididos em quatro grupos alimentados com uma dieta básica ou uma das três dietas experimentais: dieta rica em colesterol e as duas dietas contendo 0,5% de ergosterol e 1,5% de ergosterol, respectivamente, por 8 semanas.	Os resultados demonstraram que a alimentação com dietas contendo 0,5% e 1,5% de ergosterol diminuiu o colesterol total em 19,4–21,6%, o LDL-C em 42,0–42,6% e a relação CT/HDL-C em 7,1–10,5%. Isso foi acompanhado por uma redução de 46,8–53,2% no colesterol hepático e aumento de colesterol fecal 51,059,3%. Conclui-se que o consumo de ergosterol pode melhorar favoravelmente os perfis lipídicos séricos.

Li <i>et al.</i> , 2019	Ensaio experimental randomizado;	Explorar o metabolismo do colesterol modulado por esterol vegetal.	45 hamsters foram divididos em grupo controle, grupo de dieta rica em gordura (DRG) e três grupos de tratamento alimentados com DRG e suplementados com esteróis de soja. Os níveis de mRNA do fígado e intestino dos genes associados à absorção/excreção de colesterol foram avaliados por um diagnóstico laboratorial feito por biologia molecular (PCR-RT).	Conclui-se que a suplementação dietética desses esteróis pode regular transporte, síntese e metabolismo do colesterol, bem como a excreção de esteróis, modulando a expressão de vários genes e regulação da microbiota intestinal.
Chau <i>et al.</i> , 2020	Estudo randomizado duplo-cego	Avaliar a eficácia de uma bebida de soja enriquecida com fitoesteróis na redução do nível sérico de colesterol, LDL Colesterol (LDL-C) e outros parâmetros cardiovasculares.	159 participantes normocolesterolêmicos foram randomizados para ingestão diária de uma porção de bebida de soja enriquecida com fitoesteróis, equivalente a 2 g de fitoesteróis por dia, ou uma bebida de soja correspondente sem fitoesteróis por 3 semanas.	Entre o grupo de tratamento, a bebida de soja enriquecida com fitoesteróis diminuiu significativamente o LDL-C em 5,96% com uma mediana de 6,74% em comparação com o valor basal, resultando em uma redução significativa de 4,70% com mediana de 5,20% em comparação com placebo. Conclui-se que o consumo diário dessa bebida pode reduzir o colesterol LDL em indivíduos.
Ruuth <i>et al.</i> , 2020	Estudo de Intervenção randomizada	Investigar o efeito do consumo de ésteres de estanol vegetal nas propriedades pró-aterogênicas do LDL	Os sujeitos do estudo foram randomizados para consumir uma pasta enriquecida com éster de estanol vegetal (3,0 g de estanois vegetais/d) ou a mesma pasta sem adição de ésteres de estanol vegetal por 6 meses.	A suscetibilidade à agregação de LDL foi diminuída no grupo de éster de estanol vegetal. Esta diminuição foi associada à diminuição da proporção de LDL esfingomielinas e aumento da proporção de LDL-triacilgliceróis. Conclui-se que o consumo de ésteres de estanol vegetal diminui a suscetibilidade à agregação de partículas de LDL.

Yuan et al., 2020	Ensaio in vitro randomizado;	Investigar o possível mecanismo molecular sobre os efeitos dos fitoesteróis na redução do colesterol e explorar a correlação com sua estrutura.	As Células de Adenocarcinoma colorretal humano (Caco-2) foram expostas a várias concentrações de ergosterol, acetato de ergosterol, campesterol, β -sitosterol, estigmasterol e estelasterol por 24h, e por meio de ensaio colorimétrico foi avaliado a viabilidade celular e a citotoxicidade (método CCK-8).	Os resultados mostraram que os fitoesteróis produziram efeito redutor de colesterol nas células Caco-2. Conclui-se que a atividade dos fitoesteróis em reduzir o colesterol pode estar correlacionada com os seus grupos funcionais.
Nunes et al., 2022	Estudo randomizado;	Investigar se os fitoesteróis plasmáticos se relacionam com a taxa de síntese de colesterol do corpo	Os autores estudaram 38 voluntários não obesos randomizados para consumir 400 mL/dia de leite de soja (Fase Controle) ou leite de soja + fitoesteróis (1,6 g/dia) por quatro semanas em um estudo cruzado duplo-cego. Os fitoesteróis foram medidos no plasma por cromatografia gasosa acoplada à espectrofotometria de massas.	O tratamento com fitoesteróis reduziu a concentração plasmática de colesterol total (5,5%), LDL-C (7,6%), triglicerídeos (13,6%) e Apolipoproteína B (apo B) (6,3%), sem alterar o colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C)
He et al., 2022	Ensaio experimental randomizado;	Investigar os efeitos da suplementação de fitoesteróis no desempenho de crescimento, composição corporal, índices bioquímicos séricos e metabolismo lipídico de corvina amarela grande juvenil alimentados com dieta rica em lipídios	A dieta com alto teor de lipídios (18%) foi utilizada como dieta controle, e outras três dietas foram formuladas com suplementação de 0,5%, 1,0% e 1,5% de fitoesteróis, respectivamente, com base na dieta controle por 10 semanas.	Os resultados mostraram que o fitosterol dietético reduziu os efeitos adversos da dieta rica em lipídios na corvina amarela através do mecanismo de regulação benéfica de genes relacionados ao metabolismo lipídico no intestino e no fígado.
Lv et al., 2023	Ensaio experimental randomizado	Investigar o mecanismo pelo qual os fitoesteróis regulam o metabolismo do colesterol em camundongos com dieta rica em gordura (HFD).	Camundongos alimentados com dieta normal (DN), dieta rica em gordura (DH) e dieta hiperlipídica com fitoesteróis (DH + PS).	Os resultados mostraram que o tratamento com fitoesteróis reduziu o acúmulo de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG) e colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) no soro de camundongos com dieta rica em gordura (HFD), enquanto aumentou os níveis séricos de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C).

REFERÊNCIAS

BERBERICH, A.J.; HEGELE, R.A. A Modern Approach to Dyslipidemia. **Endocrine Reviews**, v. 43, n. 4, p. 611–653, 2022. DOI: 10.1210/endrev/bnab037.

BLOOM, W. A.; KOPPENOL, W. P.; HIEMSTRA, H.; STOJAKOVIC, T.; SCHARNAGL, H.; TRAUTWEIN, E. A. A low-fat spread with added plant sterols and fish omega-3 fatty acids lowers serum triglyceride and LDL-cholesterol concentrations in individuals with modest hypercholesterolaemia and hypertriglyceridaemia. **Revista Europeia de Nutrição**, v. 58, n. 4, p. 1615-1624, 2019. DOI: 10.1007/s00394-018-1706-1.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Dislipidemia**: prevenção de eventos cardiovasculares e Pancreatite. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde. p.36, Brasília: Ministério da Saúde, 2020.

CABRAL, E. C.; KLEIN, M.R.S.T. Fitoesteróis no tratamento da hipercolesterolemia e prevenção de doenças cardiovasculares. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 109, n. 5, p. 475-482, 2017. DOI: 10.5935/abc.20170158.

CHAU, Y. P.; CHENG, Y. C.; SING, C. W.; TSOI, M. F.; CHENG, V. K. F.; LEE, G. K. Y.; CHEUNG, B. M. The lipid-lowering effect of once-daily soya drink fortified with phytosterols in normocholesterolaemic Chinese: a double-blind randomized controlled trial. **European journal of nutrition**, v. 59, n. 6, p. 2739-2746, 2020. DOI: 10.1007/s00394-019-02119-w.

DUAN, Y.; GONG, K.; XU, S.; ZHANG, F.; MENG, X.; HAN, J. Regulation of cholesterol homeostasis in health and disease: from mechanisms to targeted therapeutics. **Signal Transduct and Targeted Therapy**, v.7, n.265, 2022. DOI: 10.1038/s41392-022-01125-5.

FENG, S.; BELWAL, T.; LI, L.; LIMWACHIRANON, J.; LUO, Z. Phytosterols and their derivatives: Potential health-promoting uses against lipid metabolism and associated diseases, mechanism, and safety issues. **Compr Rev Food Sci Food Saf.** n. 19, p. 1243–1267, 2020. DOI: 10.1111/1541-4337.12560.

FERGUSON, J. J. A.; WOLSKA, A.; REMALEY, A. T.; STOJANOVSKI, E.; MACDONALD-WICKS, L.; GARG, M. Bread enriched with phytosterols with or without curcumin modulates lipoprotein profiles in hypercholesterolaemic individuals. A randomised controlled trial. **Food Funct**, v. 57, p. 515-2527, 2019. DOI: 10.1039/c8fo02512f.

HE, W. S.; CUI, D.; LI, L.; TONG, L. T.; RUI, J., LI, H. E.; LIU, X. Cholesterol reducing effect of ergosterol is modulated via inhibition of cholesterol absorption and promotion of cholesterol excretion. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 488-496, 2019. DOI: 10.1016/j.jff.2019.04.042.

HE, Y.; TANG, Y.; XU, N.; YAO, C.; GONG, Y.; YIN, Z.; LI, Q.; ZHANG, Y.; LAI, W.; LIU, Y.; CAO, X.; MAI, K.; AI, Q. Effects of supplemental phytosterol on growth

performance, body composition, serum biochemical indexes and lipid metabolism of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed with high lipid diet. **Aquicultura**, v. 551, p. 737-889, 2022. DOI:10.1016/j.aquaculture.2022.737889

IZAR, M.C.O.; GIRALDEZ, V.Z.R.; BERTOLAMI, A.; SANTOS FILHO, R.D.S.; LOTTENBERG, A.M.; ASSAD, M.H.V. Atualização da Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar – 2021. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 117, n. 4, p. 782-844, 2021. DOI: 10.36660/abc.20210788.

IZAR, M.; FONSECA, F.; FALUDI, A.; ARAÚJO, D.; VALENTE, F.; BERTOLUCI, M. Manejo do risco cardiovascular: dislipidemia. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2023. DOI: 10.29327/557753.2022-19.

LI, X.; ZHANG, Z.; CHENG, J.; DIAO, C.; YAN, Y.; LIU, D.; ZHENG, F. Dietary supplementation of soybean-derived sterols regulates cholesterol metabolism and intestinal microbiota in hamsters. **Journal of Functional Foods**, v. 59, p. 242-250, 2019. DOI: 10.1016/j.jff.2019.05.032.

LI, X.; XIN, Y.; MO, Y.; MAROZIK, P.; HE, T.; GUO, H. The Bioavailability and Biological Activities of Phytosterols as Modulators of Cholesterol Metabolism. **Molecules**, v.27, n.2, p.523, 2022. DOI: 10.3390/molecules27020523.

LV, W.; HUANG, J.; LIN, J.; MA, Y.; HE, S.; ZHANG, Y.; WANG, T.; CHENG, K.; XIONG, Y.; SUN, F.; PAN, Z.; SUN, J.; MAO, W.; GUO, S. Phytosterols alleviate hyperlipidemia by regulation gut microbiota and cholesterol metabolism in mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/6409385>

MOHER, D.; SHAMSEER, L.; CLARKE, M.; GHERSI, D.; LIBERATI, A.; Mark PETTICREW, M.; SHEKELLE, P.; STEWART, L.A. Principais itens para relatar Revisões Sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. **Rev Epidemiol Serv Saúde**. Brasília, v. 24, n. 2, p. 335-342, Jun., 2015. DOI: 10.1136/bmj.g7647.

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C.A.; MELLO, E.D.; MELLO, P.P.; MELLO, P.D.; ZORZO, R.A.; RIBAS-FILHO, D. Consenso da Associação Brasileira de Nutrologia sobre manejo da dislipidemia secundária à obesidade infanto-juvenil. **Int J Nutrol.** v.10, p.78-161, 2017. DOI: 10.22565/IJN.V10I4.328

NUNES, V.S.; ILHA, A.O.G.; FERREIRA, G.S.; BOMBO, R.P.A.; AFONSO, M.S.; LABRADOR, M.S.F.; MACHADO, R.M.; NAKANDAKARE, E.R.; QUINTÃO, E.C.R.; LOTTENBERG, A.M. Plasma lathosterol measures rates of cholesterol synthesis and efficiency of dietary phytosterols in reducing the plasma cholesterol concentration. **Clinics**, v.77, p.100028, 2022. DOI: 10.1016/j.clinsp.2022.100028.

PEREIRA-FREIRE, J.A.; OLIVEIRA, G.; LIMA, L.; RAMOS, C.; ARCANJO-MEDEIROS, S.R.; DE LIMA, A.; TEIXEIRA, S.A.; DE OLIVEIRA, G.; NUNES, N.; AMORIM, V.R.; LOPES, L.; ROLIM, L.A.; COSTA-JÚNIOR, J.S.; FERREIRA, P. In Vitro and Ex Vivo Chemopreventive Action of *Mauritia flexuosa* Products. **Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM**, 2051279, 2018. DOI: 10.1155/2018/2051279.

PEREIRA-FREIRE,, J.A.; SOUZA AQUINO, J.; NASCIMENTO CAMPOS, A.R.; FREITAS VIANA, V.G.; COSTA JÚNIOR, J.S.; NASCIMENTO SILVA, J.; MOURA, A.K.S.; CITÓ, A.M.D.G.L.; MOREIRA ARAÚJO, R.S.R; FROTA, K.M.G.; ARCANJO-MEDEIROS, S.R.; FERREIRA, P.M.P. Nutritional, Physicochemical and Structural Parameters of *Mauritia flexuosa* Fruits and By-Products for Biotechnological Exploration of Sustainable Goods. **Food technology and biotechnology**, v. 60, n.2, p.155–165, 2022. DOI: 10.17113/ftb.60.02.22.7106.

PLAT, J.; NICHOLS, J.A.; MENSINK, R.P. Plant sterols and stanols: effects on mixed micellar composition and LXR (target gene) activation. **J Lipid Res.** v.46; p.2468-2476, 2005. DOI: 10.1194/jlr.M500272-JLR200.

ROSENSON, R.S. Existing and emerging therapies for the treatment of familial hypercholesterolemia. **J Lipid Res**, v. 62, 2021. DOI: 10.1016/j.jlr.2021.100060.

RUUTH, M.; AIKAS, L.; TIGISTU-SAHLE, F.; KAKELA, R.; LINDHOLM, H.; SIMONEN, P.; KONAVEN, P.T.; GYLLING, H.; OORNI, K. Plant Stanol Esters Reduce LDL (Low-Density Lipoprotein) Aggregation by Altering LDL Surface Lipids. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.40, n.9, p.2310-2321, 2020. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.314329.

SANTOS, R.D.; GAGLIARDI, A.C.M.; XAVIER, H.T.; MAGNONI, C.D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A.M.; NOBRE, F. II Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar: Atualização 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.115, n.2, p.296-358, 2020. DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20210788>

SALEHI, B.; QUISPE, C.; SHARIFI-RAD, J.; CRUZ-MARTINS, N.; NIGAM, M.; MISHRA, A.P; KONOVALOC, D.A; OROBINSKAYA, V.; ABU REIDAH, I.M; ZAM, W. Fitoesteróis: Das Evidências Pré-clínicas às Potenciais Aplicações Clínicas. **Frente. Farmacol.** v.11, 599959, 2020. DOI: 10.3389/fphar.2020.599959.

SMET E.; MENSINK, R.P.; PLAT, J. Effects of plant sterols and stanols on intestinal cholesterol metabolism: suggested mechanisms from past to present. **Mol Nutr Food Res.** v.56, p.1058-72, 2012. DOI: 10.1002/mnfr.201100722.

SONG, C.; ROSENSON, R.S. Competing Genetic Traits and Their Influence on LDL Cholesterol Concentration in Familial Hypercholesterolemia. **JACC Case Rep**, v.29, n.2, 102171, 2023. DOI: 10.1016/j.jaccas.2023.102171.

VALENÇA, S.E.O.; BRITO, A.D.M., SILVA, D.C.G.; FERREIRA, F.G.; NOVAES, J. F.; LONGO, G.Z. Prevalência de dislipidemias e consumo alimentar: um estudo de base populacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.26, n.11, p.5765–5776, 2021. DOI: 10.1590/1413-812320212611.28022020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Non communicable Diseases: Risk Factors. **The Global Health Observatory.** 2021. Available online: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/topic-details/GHO/ncd-risk-factors> (accessed on 21 February 2024).

YUAN, L.; ZHANG, F.; JIA, S.; XIE, J.; SHEN, M. Differences between phytosterols with different structures in regulation cholesterol synthesis, transport and metabolism in Caco-2 cells. **Journal of Functional Foods**, v.65, p.103715, 2020. DOI:10.1016/j.jff.2019.103715.

YANG, R.; XUE, L.; ZHANG, L.; WANG, X.; QI, X.; JIANG, J.; YU, L.; WANG, X.; ZHANG, W.; ZHANG, Q. Phytosterol Contents of Edible Oils and Their Contributions to Estimated Phytosterol Intake in the Chinese Diet. **Foods**, v.8, p.334, 2019. DOI:10.3390/foods8080334

ZHANG, Z-L.; LUO, Z-L.; SHI, H.W.; ZHANG, L.X.; MA, X-J. Advancement in Functional Plant Pharmaceutical Cycloartenol Research on Pharmacological and Physiological Activity. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v.42, n. 3, p.433-437, 2017. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20161222.066

CAPÍTULO 04

PATENTE 02: Bioformulações contendo coprodutos do epicarpo da *Mauritia flexuosa* L.f.





Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2024 014650 6

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 06517387000134

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Campus Universitário Ministro Petrônio Portella

Cidade: Teresina

Estado: PI

CEP: 64049550

País: Brasil

Telefone: 8632371638

Fax: 8632371638

Email: nintec@ufpi.edu.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em
17/07/2024 às 14:37, Petição 870240060263

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa* L.f.

Resumo: BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa* L.f. A refere-se à obtenção de bioformulações contendo coprodutos (extrato hexânico e fração insaponificável) do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*). Essas bioformulações utilizam o azeite de oliva extravirgem, aumentando seu valor nutricional com a adição de compostos bioativos, como fitoesteróis, tocoferóis e triterpenos. Estes compostos oferecem efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, hipocolesterolêmicos e outros benefícios à saúde, ajudando na prevenção de doenças crônicas. Os coprodutos do epicarpo foram obtidos conforme descrito no relatório inventivo de Depósito de Pedido de Patente Nº BR 10 2024 010620 2. A adição desses coprodutos ao azeite ocorreu por meio de agitação e aquecimento a 50°C em banhomaria, resultando em uma mistura homogênea. As bioformulações foram testadas in vivo em *Danio rerio*, mostrando excelentes resultados em animais hiperglicêmicos, incluindo a redução de espécies reativas de oxigênio no tecido cerebral e hepático, com concentrações acima de 12 mg/mL sendo mais eficazes que a metformina e o grupo controle. Isso demonstra o potencial antioxidante e a viabilidade para aplicações em tratamentos de distúrbios metabólicos. Especificamente, as bioformulações contendo coprodutos do epicarpo de *Mauritia flexuosa* têm potencial preventivo e terapêutico devido à presença de compostos biologicamente ativos que reduzem o risco de doenças crônicas relacionadas à hiperglicemia e ao estresse oxidativo. Elas melhoram os perfis lipídicos, contribuindo para a saúde cardiovascular com propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras e quimiopreventivas. Além disso, o uso de coprodutos do epicarpo promove a exploração de novos produtos sustentáveis, gerando benefícios científicos, mercadológicos e de segurança alimentar para as comunidades locais e regionais. Esta invenção está contida no setor técnico da biotecnologia, especificadamente na área de suplementos alimentares.

Figura a publicar: Fig1

PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 17/07/2024 às 14:37, Petição 870240060263



RELATÓRIO DE INVENÇÃO

1.DADOS DO(S) CO-TITULAR(ES)

3.DADOS DA INVENÇÃO

Área predominante da tecnologia

☒ (x) Biotecnologia	☐ () Farmácia	☐ () Química	☐ () Alimentos	☐ () Engenharia	Outra:
---	---------------------------------------	--------------------------------------	--	---	--------

Nome Institucional/Empresarial: Universidade Federal do Piauí		CNPJ: 06.517.387/0001-34
Endereço:		CEP:
Fone:	Fax:	E-mail:
Representante Legal (Nome completo):		
Identidade Nº:	Órgão expedidor:	Data de emissão:
CPF:	Data nascimento:	Estado Civil:
Nacionalidade:	Naturalidade:	
Endereço Residencial Completo:		
Telefone Residencial:		Celular:
Telefone Institucional/Empresarial:		Celular Institucional/Empresarial:
% Participação/Royalties: 30%		

Título: Bioformulações contendo coprodutos do epicarpo da *Mauritia flexuosa* L.f.

Palavras chave

Português	Inglês
Bioformulação	Bioformulation
<i>Mauritia flexuosa</i>	<i>Mauritia flexuosa</i>
Compostos bioativos	Bioactive compounds
Fração insaponificável	Unsaponifiable fraction
Hipoglicemiante	Hypoglycemic

Campo da invenção

A presente invenção diz respeito ao aproveitamento integral do epicarpo da *Mauritia flexuosa* L.f. na obtenção de bioformulações contendo os coprodutos do epicarpo (extrato hexânico e fração insaponificável) veiculados em azeite de oliva extra virgem, com acidez máxima de 0,1% a 0,5%. Especificamente, bioformulações contendo coprodutos do epicarpo (extrato hexânico e fração insaponificável) *Mauritia flexuosa* L.f. consiste no invento com potencialidade preventiva e terapêutica em virtude da presença de vários compostos biologicamente ativos (CBA) que atuam no papel metabólico reduzindo o risco de doenças crônicas relacionadas à hiperglicemia e ao estresse oxidativo, bem como melhoram perfis lipídicos contribuindo para a saúde cardiovascular, devido às propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras. Esta invenção está inserida na área de biotecnologia, farmacológica, alimentícia, especificamente na área de suplementos alimentares.

Fundamentos da Invenção

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) é a palmeira mais abundante no Brasil e amplamente encontrada na Amazônia e no Cerrado. Além disso, também pode ser encontrado em outros países da América do Sul, incluindo Colômbia, Peru, Equador, Bolívia, Venezuela e Guiana. A palmeira buriti pertence à família *Arecaceae* e possui tronco reto e cilíndrico que pode atingir até 35 m de altura, produzindo frutos cobertos por escamas marrom-avermelhadas e delgada camada de polpa amarela que pode ser consumida na forma de sucos, doces, sorvetes, picolés, geléias e vinhos (RESENDE, L. M. FRANCA, A. S.; & OLIVEIRA, L. S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 270, p. 53–60, 2019. RUDKE, A. R.; MAZZUTTI, S.; ANDRADE, K. S.; VITALI, L.FERREIRA, S. R. S. Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. **Food Chemistry**, v.298, 2019).

O epicarpo do buriti possui uma elevada concentração de ácidos graxos monoinsaturados (68,2%) em especial para o ácido oleico, com 67,4% da matriz seca, evidenciando também a presença de ácidos graxos poliinsaturados, com uma concentração de 2,1% de ácido linoleico. Outro ponto importante a ser destacado é a

presença de fitoesteróis no epicarpo do buriti, sendo a única parte do fruto que evidenciou quantidades deste grupo bioativo, com predominância para o β -sitosterol (1,4%) (PEREIRA-FREIRE, J.A. et al. Nutritional, physicochemical and structural parameters of *Mauritia flexuosa* fruits and by-products for biotechnological exploration of sustainable goods. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 155-165, 2022).

Os fitoesteróis, são uma classe de compostos lipofílicos encontrados em plantas com alta semelhança estrutural com o colesterol, uma molécula bem conhecida encontrada endogenamente em humanos, particularmente notória por sua relação com doenças cardiovasculares (DCV). Os fitoesteróis são componentes das membranas das plantas que, assim como o colesterol, regulam a fluidez e a permeabilidade da membrana (Tian Zhao, Bowen Yang, Shengyang Ji, Jingyang Luo, Yan Liu, Yongheng Zhong, Baiyi Lu. Effects of the structure and interaction force of phytosterol/whey protein isolate self-assembly complex on phytosterol digestion properties, **Food Chemistry**, v. 403, 2023).

Como os fitoesteróis não podem ser produzidos endogenamente, eles são obtidos a partir da ingestão de vegetais, frutas, grãos, cereais, óleos vegetais e margarinas. De fato, os fitoesteróis já são descritos na literatura por seu efeito de redução do colesterol, em virtude de sua ação hipolipidêmica, atuando na diminuição do risco de doenças cardiovasculares (PESSOA, M. L. dos S. B.; SPÍNDOLA, M. R. S.; LEÃO, G. M. B.; MOURA, C. B. da S.; ROCHA, D. de L.; PEREIRA-FREIRE, J. A.; MEDEIROS, S. R. A. Evidências experimentais e clínicas sobre o efeito dos fitoesteróis e fitoesteróis na prevenção das dislipidemias. **Nutrivisa - Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, Fortaleza, v. 11, n. 1, p. e12912, 2024; LI, X.; XIN, Y.; MO, Y.; MAROZIK, P.; HE, T.; GUO, H. The Bioavailability and Biological Activities of Phytosterols as Modulators of Cholesterol Metabolism. **Molecules**, v.27, n.2, p.523, 2022.).

O β -sitosterol (SIT), componente bioativo mais abundante do óleo vegetal e de outras plantas, é um fitoquímico com ação hipoglicemiante altamente potente que atua no controle glicêmico através da ativação de receptores de insulina (IR) e GLUT4, conforme demonstrado em modelo animal, no tecido adiposo de ratos diabéticos tipo 2 alimentados com dieta induzida com alto teor de gordura e sacarose. Outro ponto a destacar é que nesse mesmo estudo, a análise *in silico* coincidiu com os resultados *in vivo*. Os autores afirmam que as propriedades hipoglicemiantes do β -sitosterol são

altamente equivalentes às exercidas pelos medicamentos hipoglicemiantes convencionais, incluindo a metformina (PONNULAKSHMI, R.SHYAMALADEVI, B.; VIJAYALAKSHMI, P.; SELVARAJ, J. *In silico* and *in vivo* analysis to identify the antidiabetic activity of beta sitosterol in adipose tissue of high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic experimental rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, p. 276-290, 2019; JAYARAMAN, S.; DEVARAJAN, N.; RAJAGOPAL, P.BABU, S.; GANESAN, S.K.; VEERARAGHAVAN, V.P.; PALANISAMY, C.P.; CUI, B.; PERIYASAMY, V.; CHANDRASEKAR, K. β -Sitosterol Circumvents Obesity Induced Inflammation and Insulin Resistance by down-Regulating IKK β /NF- κ B and JNK Signaling Pathway in Adipocytes of Type 2 Diabetic Rats. **Molecules**, v. 26, n. 2101, 2021).

A *Food and Drug Administration* (FDA) e a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) reconhecem os fitoesteróis como “seguros” e autorizaram alegações de saúde relativas à redução do risco de doença cardíaca coronária com uma ingestão diária de pelo menos 2 g/dia (LYU, Q.; CHEN, L.; LIN, S.; CAO, H.; TENG, H. A designed self-microemulsion delivery system for dihydromyricetin and its dietary intervention effect on high-fat-diet fed mice. **Food Chemistry**, v. 390, 2022). Essas alegações de saúde a partir da ingestão dos fitoesteróis levou a um aumento da disponibilidade e consumo de alimentos fortificados com fitoesterol e suplementos alimentares. A ingestão diária em uma dieta ocidental típica é em média de cerca de 300 mg para fitoesteróis e 20 mg para fitoestanóis (YANG, B.; ZHAO, T.; JI, S.; LIU, Y.; XU, M.; LU, B. Molecular dynamics simulations of the interfacial behaviors and photo-oxidation of phytosterol under different emulsion oil content. **Food Chemistry**, v. 451, 2023). No entanto, o enriquecimento de produtos alimentícios com fitoesteróis é difícil, devido à sua fraca solubilidade em gorduras e à sua insolubilidade em água (RACZYK, M.; KMIECIK, D.; PRZYBYLSKI, R.; RUDZIŃSKA, M. Effect of Fatty Acid Unsaturation on Phytosteryl Ester Degradation. **J Am Oil Chem Soc**, v. 97, p. 701-711, 2017).

A extração dos constituintes químicos existentes no coprodutos como extrato hexano e fração insaponificável do epicarpo da *Mauritia flexuosa* L.f. é importante para aplicação destes em biotecnologia sustentável, indústria alimentícia e farmacêutica, proporcionando maiores possibilidades de uso do fruto de buriti de forma integral, como corantes naturais e/ou produção de bioalimentos com alegação nutricional e com propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes,

proporcionando maior valor nutricional aos alimentos e reduzindo os custos, uma vez que emprega coprodutos da agroindústria brasileira, agregando propriedades nutricionais e atividades biológicas aos alimentos enriquecidos a partir da presente invenção.

Desta forma, esta invenção emprega de forma inovadora o extrato hexânico e a fração insaponificável oriundos do epicarpo do buriti, permitindo viabilizar o aproveitamento integral do epicarpo no desenvolvimento de novos produtos a partir de resíduos, buscando reduzir desperdícios agroindustriais e convertê-los em coprodutos ou matérias primas de maior valor econômico, com possibilidade de aplicação em diversas áreas biotecnológicas.

Descrição detalhada da Invenção

A presente invenção refere-se, portanto, as bioformulações contendo coprodutos do epicarpo do buriti, o extrato hexânico e a fração insaponificável, veiculados em azeite de oliva extra virgem, com acidez máxima de 0,1% a 0,5%, caracterizada por um perfil favorável de segurança e eficácia na prevenção e redução de fatores de risco relacionados ao desenvolvimento de doenças cardiometabólicas crônicas.

O objeto da presente invenção é o bioproduto para uso farmacêutico ou como suplemento nutricional compreendendo a adição dos coprodutos extrato hexânico e compostos insaponificáveis extraídos do epicarpo de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) ao azeite de oliva extravirgem, preferivelmente caracterizado pelo tratamento *in vivo* realizado em modelo experimental utilizando *Danio rerio*, que consumiram bioformulações contendo extrato hexânico e fração insaponificável extraída do epicarpo do buriti, nas faixas (3 a 15 mg/mL) preferencialmente nas concentrações de 6 mg/mL e 12,5 mg/mL demonstraram excelentes resultados nos animais hiperglicêmicos. Reduziram também os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) no tecido cerebral e tecido hepático, com melhor performance nos valores acima de 12 mg/mL, em relação à metformina e ao grupo controle, demonstrando ser um potente antioxidante com viabilidade para aplicações futuras em tratamentos de distúrbios metabólicos.

Para obtenção da bioformulação foi empregado simultâneos processos de agitação e aquecimento em banho-maria (50°C), por aproximadamente 10 minutos, até a observação de uma mistura lípida e homogênea. A mistura apresentou característica

homogênea, sem formação de grumos ou partículas suspensas (Figura 1).

Figura 1 - Processo de obtenção da Bioformulação: (A): 1 - Extrato Hexânico; 2 - Fração Insaponificável do epicarpo do buriti, (B) Agitação em temperatura de 50°C em banho-maria com agitação, (C) Bioformulações: 1 - OHE-BE; 2 - OUF-BE.

A obtenção dos coprodutos do epicarpo, extrato bruto hexânico e a fração insaponificável, compreendeu as seguintes etapas, conforme descrito no relatório inventivo de Depósito de Pedido de Patente Nº BR 10 2024 010620: o epicarpo foi separado do fruto, seco a 50°C em estufa à vácuo (SL 104/30 Solab®) por 72 h, transformado em pó (1 kg) por trituração e submetidos à extração por maceração a frio, utilizando-se hexano (2 L) como solvente durante 72 h. O solvente foi removido sob vácuo em rotoevaporador (Fisatom® 802), obtendo-se, assim, o extrato bruto hexânico do epicarpo do buriti. O rendimento total do extrato hexânico de *Mauritia flexuosa* foi de 2,5%. Após a evaporação do solvente, o extrato hexânico foi submetido à saponificação seguida de reação de metilação de acordo com metodologia descrita por Hartman & Lago (1973) (Hartman, L., & Lago, R. C. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory practice**, 22 (6), 475-476, 1973), com adaptações. O rendimento total da fração insaponificável de *Mauritia flexuosa* foi de 11,0% em relação ao extrato hexânico.

Para definição das concentrações iniciais do extrato e da fração insaponificável do epicarpo do buriti, aplicadas nas bioformulações, tomou-se como base os resultados obtidos pelo teste da atividade antioxidante, verificando duas concentrações dentro da faixa de maior atividade, estas posteriormente foram submetidas ao teste de toxicidade *in vivo*, não apresentando toxicidade. Assim foram adicionadas ao azeite de oliva, obtendo bioformulações denominadas de OHE-BE (*olive oil with hexanic extract*) e OUF-BE (*olive oil with unsaponifiable fraction*), estas direcionadas para os testes *in vivo*.

A atividade antioxidante do extrato hexânico e fração insaponificável foi aferida através do método de eliminação de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), seguindo o protocolo de BLOIS (1958) (Blois, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, 1958) e pelo ensaio ABTS, realizado de acordo com MILLER et al. (1993) (MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; &

MILNER, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**, v. 84, n.4, p. 407–412, 1993), estes realizados em triplicata. A porcentagem de inibição foi calculada pela fórmula: Atividade antioxidante (%) = $(A0 - A1) / A0 \times 100$; onde A0 = absorbância do controle e A1 = absorbância da amostra.

A fração insaponificável mostra uma maior eficácia antioxidante em comparação com o extrato hexânico, conforme indicado pelos valores de IC₅₀ mais baixos para ambas as metodologias (DPPH e ABTS). Embora ambos os extratos apresentaram atividade antioxidante, eles são significativamente menos eficazes que o ácido gálico, que serve como padrão de alta eficiência antioxidante.

Tabela 1: Percentual de inibição de radicais **DPPH** e **ABTS** no extrato hexânico e na fração insaponificável.

Concentrações (mg/mL)	% Inibição			
	DPPH		ABTS	
	EH	FI	EH	FI
50	83,6	96,8	91,3	81,3
25	64,4	94,2	75,3	67,8
12,5	59,1	78,2	50,8	55,9
6,25	45,2	32,6	42,2	40,8
3,125	39,3	20,4	19,5	33,7
1,5625	7,4	7,35	5,2	22,3
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
IC ₅₀	8,1	7,92	10,15	7,92
Padrão Gálico	0,009		0,021	

EH: Extrato Hexânico; FI: Fração Insaponificável; IC₅₀: Concentração inibitória capaz de sequestrar 50% dos compostos oxidantes no meio reacional.

No teste de toxicidade aguda *in vivo*, aplicado em *Danio rerio*, os peixes (n=12) foram expostos às bioformulações contendo extrato hexânico e fração insaponificável do estudo, durante um período de 96 horas e receberam as mesmas concentrações que foram testadas em potencial antioxidante (1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 mg/mL) ou veículo (Azeite), no volume de 20 µL via oral, utilizando uma micropipeta inserida suavemente na boca dos animais. A mortalidade e anormalidades visíveis relacionadas à aparência e ao comportamento foram registrados a cada 24 horas após o início dos testes durante o período de 96 horas, conforme o guia de teste de toxicidade aguda OECD. (2019). (NO, OECD Test. 203: Fish, acute toxicity test. **OECD guidelines for the testing of chemicals, Section**, v. 2, p. 1-24).

No teste de toxicidade para a bioformulação contendo extrato hexânico ocorreu apenas uma morte no grupo controle, o que é considerado aceitável pela OECD. Em relação às bioformulações contendo fração insaponificável, foi registrado uma morte no grupo controle, o que é considerado aceitável e duas mortes na concentração de 50 mg/mL, sendo a primeira após 48 horas e a segunda após 72 horas do início do teste, o que equivale a 16,6% de mortes, o que já é considerado tóxico. Neste caso a CL50 encontrada para a fração insaponificável é >50 mg/mL, portanto um valor bem superior à concentração escolhida para ser utilizada nas bioformulações.

Para um modelo de hiperglicemia crônica induzido em peixe-zebra conforme CAPIOTTI et al. (2014) (CAPIOTTI, K. M., ANTONIOLI, R., KIST, L. W., BOGO, M. R. BONAN, C. D., & DA SILVA R. S. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 171, p. 58–65, 2014) foi utilizado para investigação do efeito das bioformulações nos parâmetros séricos e teciduais acerca do perfil glicêmico, lipídico e atividade antioxidante.

Os resultados do estudo mostraram que o tratamento com metformina e com as bioformulações, administrados via oral por seis dias em peixe-zebra hiperglicêmico, reduziram significativamente os níveis de glicemia e de frutossamina, como pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 - Efeito do tratamento com bioformulação na glicemia e na frutossamina (glicação de proteínas) do peixe-zebra.

A redução que a metformina causou em relação à glicose e à frutossamina dos animais hiperglicêmicos foi de 65% e 52% respectivamente. Os tratamentos com as bioformulações ficaram no entorno desses valores, sendo que no tratamento da glicose a bioformulação que mais se destacou foi aquela com extrato hexânico (OHE-BE 12,5) que apresentou uma redução de 73% e para o tratamento da frutossamina a bioformulação que mais se destacou foi aquela com fração insaponificável (OHE-BE 12,5), enquanto que os tratamentos com bioformulações com fração insaponificável que apresentou uma redução de 57,0% foi a melhor, como pode ser observado na tabela 2.

Tabela 2. Média e percentual de redução de glicose e frutossamina com os tratamentos.

GRUPOS	Glicose		Frutossamina	
	Valores (mg/mL)	% Redução	Valores (mg/mL)	% Redução
Pós-indução				
Hiperglicêmicos	162,86	-	285,28	-
Tratamentos				
Metformina	57,14	65,0	136,68	52,0
OHE-BE 6,25	48,68	70,0	156,66	45,0
OHE-BE 12,5	44,55	73,0	133,46	53,0
OUF-BE 6,25	60,41	63,0	127,13	55,0
OUF-BE 12,5	65,92	60,0	123,23	57,0

OHE-BE: azeite de oliva adicionado de extrato hexânico do epicarpo do buriti; OUF-BE: azeite de oliva adicionado de fração insaponificável do epicarpo do buriti.

O efeito do tratamento no perfil lipídico demonstrou que o tratamento com a bioformulação OUF-BE 12,5 mg/mL durante 6 dias consecutivos resultou em uma redução significativa nos níveis de colesterol total (CT) e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) após o período de indução de hiperglicemia. Detalhando estes resultados, na Tabela 3, verifica-se que quanto ao colesterol total a bioformulação OUF-BE 12,5 apresentou os melhores resultados, com níveis próximos aos do grupo controle. Entre todos os tratamentos aplicados, OUF-BE 12,5 foi o mais eficaz na redução do colesterol total, indicando uma melhora significativa nos perfis lipídicos. Em relação ao LDL-c o tratamento com OUF-BE 12,5 também resultou nos melhores níveis, aproximando-os dos níveis do grupo controle. O azeite de oliva e a metformina apresentaram um desempenho inferior, não conseguindo reduzir os níveis de LDL-c a valores próximos à normalidade. Quanto ao HDL-c os piores resultados foram observados com o veículo (azeite de oliva puro) e a metformina, todas as bioformulações (OHE-BE e OUF-BE) mostraram um bom desempenho na recuperação dos níveis de HDL-c, diferenciando-se estatisticamente e retornando os valores à normalidade. VLDL e TGL não apresentaram grandes alterações entre os diferentes tratamentos, sugerindo que esses parâmetros não foram significativamente impactados pelas formulações durante o período de tratamento.

Tabela 3. Efeito do tratamento com a bioformulação no perfil lipídico

	Colesterol (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	TGL (mg/dL)
Controle	124,20 ± 4,82^a	73,12 ± 10,66^a	33,94 ± 9,90^a	28,69 ± 3,90 ^a	132,30 ± 9,31^a
Veículo	157,70 ± 7,88 ^b	48,55 ± 4,75 ^b	70,72 ± 13,66 ^b	29,83 ± 7,62 ^a	149,10 ± 38,11 ^a
Metformina	144,90 ± 20,9 ^b	48,73 ± 10,28 ^b	68,12 ± 12,98 ^b	36,93 ± 6,64 ^a	194,60 ± 18,73 ^b
OHE-BE 6,25	141,50 ± 4,48 ^b	77,25 ± 8,81^a	37,85 ± 7,05^a	29,69 ± 5,23 ^a	148,40 ± 26,44 ^a
OHE-BE 12,5	175,40 ± 12,29 ^b	85,81 ± 5,88^a	62,78 ± 8,32 ^b	25,36 ± 1,07 ^a	126,80 ± 5,36^a
OUF- BE6,25	151,20 ± 7,17 ^b	83,81 ± 5,51^a	39,56 ± 14,11^a	26,69 ± 5,36 ^a	133,40 ± 26,83^a
OUF-BE 12,5	125,60 ± 14,36^a	54,05 ± 8,25^a	32,03 ± 17,62^a	27,78 ± 1,42 ^a	138,90 ± 7,10^a

Médias ± desvio-padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). OHE-BE: azeite de oliva adicionado de extrato hexânico do epicarpo do buriti; OUF-BE: azeite de oliva adicionado de fração insaponificável do epicarpo do buriti.

O tratamento com as bioformulações por 6 dias, pós-indução, nos níveis de EROs no cérebro, mostrou que ambas as doses de OHE-BE (6,25 mg/mL e 12,5 mg/mL) não se diferenciam estatisticamente da metformina, sugerindo que essas doses possuem eficácia similar à metformina na modulação da fluorescência. OUF-BE (6,25 mg/mL) apresentou uma redução na fluorescência, igualando-se ao controle, indicando uma possível redução do estresse oxidativo ou dano celular e OUF-BE (12,5 mg/mL) não se diferenciou estatisticamente do grupo controle e da metformina, sugerindo que essa dose tem uma eficácia intermediária. A eficácia das diferentes formulações e doses de buriti varia, com OHE-BE mostrando um efeito similar à metformina e OUF-BE apresentando uma redução na fluorescência similar ao controle. Em se tratando de números absolutos as bioformulações contendo a fração insaponificável, nas duas concentrações, foram as que mais reduziram o estresse oxidativo, sendo mais eficaz até do que a metformina e uma delas (OUF-BE 6,25) ocorreu a reversão do estresse ao nível do grupo controle (Figura 3a).

Figura 3 - Efeito do tratamento com a bioformulação nos níveis de EROs no cérebro e no fígado do peixe-zebra.

Os tratamentos com metformina e os diferentes extratos de buriti (OHE-BE e OUF-BE) nas doses testadas não apresentam diferenças significativas em relação ao

controle em termos de fluorescência. Todos os tratamentos apresentaram níveis de EROs no fígado menores do que o tratamento com metformina, mesmo não diferenciando-se estatisticamente, mas indicando potencial na redução do estresse oxidativo. A bioformulção OUF-BE (12,5 mg/mL) se destacou, por apresentar níveis de EROs menores até do que o grupo controle, demonstrando a eficácia no controle do estresse oxidativo (Figura 3b).

Para análise sensorial foi utilizado o teste afetivo, com técnica da escala hedônica de nove pontos, na qual os participantes expressaram o grau de gostar ou não gostar do produto, com termos definidos que variam de “Desgostei muitíssimo” = 1 a “Gostei muitíssimo” = 9, contendo um ponto intermediário com o termo “nem gostei; nem desgostei” (INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020p)

Os atributos sensoriais (cor, sabor, aroma, textura e aparência) foram avaliados por meio da escala hedônica de nove pontos; escala Likert para intenção de compra do produto, variando de 1 a 5, na qual 1 significava, certamente não compraria, 5 certamente compraria e, 3, indiferente à compra. Os atributos sensoriais e intenção de compra do produto foram analisados pelo Índice de Aceitabilidade (IA) (DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 5ª ed. rev. Curitiba: PUCPRESS, 2019; MONTEIRO, C.L.B. **Técnicas de avaliação sensorial**. Curitiba, P.R.: CEPPAUFPR, 1984,101p) e por medidas de dispersão relativa ou coeficiente de variação de Pearson (CVP). O índice de aceitabilidade analisa os atributos sensoriais a partir das notas atribuídas pelos julgadores, oferecendo um percentual em relação às frequências de notas e o total de julgadores. O padrão de referência da aceitabilidade deve ser $\geq 70\%$. Será calculado pela fórmula: $IA (\%) = A \times 100/B$ (A = nota média obtida para o produto; B = nota máxima dada ao produto).

A Figura 4 apresenta os resultados do teste de aceitabilidade (Escala Hedônica) de bioformulações contendo fração insaponificável de buriti e do azeite de oliva puro. Foram avaliados seis aspectos sensoriais: impressão global, aparência, cor, aroma, sabor e consistência. Cada aspecto foi analisado considerando a aceitação, indiferença e rejeição pelos provadores. As bioformulações contendo fração insaponificável de buriti (OUF-BE 6,25 e OUF-BE 12,5) apresentaram maior aceitação em quase todos os aspectos analisados em comparação ao azeite puro. As formulações foram especialmente bem avaliadas em termos de aparência, cor e consistência. A maior

concentração da fração insaponificável (OUF-BE 12,5) tende a ter uma aceitação ligeiramente superior à formulação de menor concentração (OUF-BE 6,25).

Figura 4 - Teste de Aceitabilidade (Escala Hedônica) de bioformulações contendo fração insaponificável de buriti e do azeite de oliva puro.

Quanto ao sabor adocicado para as amostras OUF-BE 6,25 e OUF-BE 12,5 aproximadamente 40% das notas foram na categoria de mais forte que o ideal e para o azeite 60% nas notas estavam na categoria de sabor ideal. Para a cor amarela, OUF-BE 6,25 teve aproximadamente 75% das notas na categoria de mais forte que o ideal, OUF-BE 12,5 80% acharam a cor mais forte que o ideal e para o azeite aproximadamente 60% avaliaram a cor como ideal (Figura 5). Os dados sensoriais indicam que, embora as bioformulações OUF-BE 6,25 e OUF-BE 12,5 apresentem boa aceitação em diversos aspectos, mas o sabor adocicado e a intensidade da cor amarela foram considerados mais fortes que o ideal por uma parte significativa dos provadores.

Figura 5 - Escala do Ideal para a cor amarela e o sabor adocicado em bioformulações e no azeite puro.

Quanto à intenção de compra (Figura 6), os resultados indicam que a amostra de azeite puro foi a mais bem avaliada, recebendo quase 80% de avaliações positivas. A bioformulação OUF-BE 6,25 teve uma aceitação moderada, com 40% de avaliações positivas, enquanto a OUF-BE 12,5 apresentou uma maior rejeição, com cerca de 50% de avaliações negativas. Esses dados sugerem que o azeite puro ainda é preferido pelos consumidores em comparação com as bioformulações contendo fração insaponificável de buriti.

Figura 6 - Intenção de Compra para as bioformulações contendo fração insaponificável e para o azeite.

Resumo da invenção

A presente invenção refere-se à obtenção de bioformulações contendo coprodutos (extrato hexânico e fração insaponificável) do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*). Essas bioformulações utilizam o azeite de oliva extravirgem, aumentando seu valor nutricional com a adição de compostos bioativos, como fitoesteróis,

tocoferóis e triterpenos. Estes compostos oferecem efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, hipocolesterolêmicos e outros benefícios à saúde, ajudando na prevenção de doenças crônicas.

Os coprodutos do epicarpo foram obtidos conforme descrito no relatório inventivo de Depósito de Pedido de Patente Nº BR 10 2024 010620 2. A adição desses coprodutos ao azeite ocorreu por meio de agitação e aquecimento a 50°C em banho-maria, até total homogeneização.

As bioformulações foram testadas *in vivo* em *Danio rerio*, mostrando excelentes resultados em animais hiperglicêmicos, incluindo a redução de espécies reativas de oxigênio no tecido cerebral e hepático, com concentrações acima de 12 mg/mL sendo mais eficazes que a metformina e o grupo controle. Isso demonstra o potencial antioxidante e a viabilidade para aplicações em tratamentos de distúrbios metabólicos.

Especificamente, as bioformulações contendo coprodutos do epicarpo de *Mauritia flexuosa* têm potencial preventivo e terapêutico devido à presença de compostos biologicamente ativos que reduzem o risco de doenças crônicas relacionadas à hiperglicemia e ao estresse oxidativo. Elas melhoram os perfis lipídicos, contribuindo para a saúde cardiovascular com propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras e quimiopreventivas. Além disso, o uso de coprodutos do epicarpo promove a exploração de novos produtos sustentáveis, gerando benefícios científicos, mercadológicos e de segurança alimentar para as comunidades locais e regionais. Ressalta-se que esta invenção está inserida na área de biotecnologia, especificamente na área de suplementos alimentares.

A novidade da invenção

A principal inovação das bioformulações trata-se de produtos que proporcionam uma veiculação natural e saudável de compostos bioativos dos coprodutos do epicarpo do buriti, podendo atuar como preventivo ou coadjuvante no tratamento de várias desordens metabólicas. A presente invenção possui uma proposta de aplicação na indústria alimentícia, de um coproduto agroindustrial de excelente potencial nutricional e que possui propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, anti-inflamatória, dentre outras. Importante destacar que a aplicação de coprodutos como o epicarpo, são essenciais para ampliar as opções de novos produtos

sustentáveis que proporcionem múltiplos benefícios à saúde, e que gerem, inclusive, rendimento e segurança alimentar para as comunidades locais e regionais.

A bioformulação utilizando o extrato ou fração insaponificável do epicarpo do buriti representa uma inovação promissora na indústria alimentícia, combinando benefícios nutricionais robustos com sustentabilidade ambiental e impacto social positivo. Essa abordagem não apenas diversifica a oferta de produtos alimentícios, mas também fortalece as economias locais e regionais, oferecendo produtos que promovem a saúde e o bem-estar globalmente.

A atividade biológica da fração insaponificável do epicarpo do buriti, demonstrou ter significativa redução na glicemia, nas EROs do tecido cerebral e hepático de animais hiperglicêmicos além de melhorar o perfil lipídico, destacando assim o seu potencial terapêutico. A eficácia na redução dos níveis de EROs, superando a metformina, aponta para a forte capacidade antioxidante e anti-inflamatória dessas bioformulações.

O uso de coprodutos advindos do epicarpo do buriti para desenvolver bioformulações é uma abordagem sustentável que valoriza recursos naturais nativos da Amazônia e do Cerrado. A exploração sustentável do buriti pode contribuir para a preservação das palmeiras e apoiar a economia local, proporcionando uma fonte de renda para comunidades ribeirinhas. A extração de componentes bioativos do buriti, se realizada de forma sustentável, contribui para a conservação das palmeiras e seus ecossistemas. A produção e comercialização de bioformulações derivadas do buriti podem gerar emprego e renda para as comunidades locais, incentivando a preservação ambiental. A presente invenção de bioformulações contendo coprodutos do epicarpo do buriti, em diferentes concentrações, representa um avanço significativo na busca por tratamentos naturais e eficazes para o diabetes mellitus e outras condições associadas ao estresse oxidativo. A inovação não só apresenta uma alternativa terapêutica potente, mas também promove a sustentabilidade e o uso consciente de recursos naturais.

Quais as vantagens da presente invenção? Quais problemas ela resolve?

A presente invenção apresenta como vantagens:

1. Sustentabilidade: Esta invenção destaca-se pela sua abordagem sustentável, utilizando um coproduto agroindustrial, frequentemente negligenciado, como sua base. Ao aproveitar o integral da planta, reduzindo o desperdício e aumentando a eficiência

do uso de recursos naturais. Também contribui para a preservação dos ecossistemas onde a planta é nativa, promovendo práticas de colheita responsáveis conservando a biodiversidade.

2. Ampla aplicação dos compostos bioativos: Destacamos a versatilidade desta invenção ao explorar os compostos bioativos do buriti, que encontram aplicação em diversos setores, incluindo alimentício, farmacêutico e cosmético. Ao fornecer uma fonte sustentável de ingredientes naturais com benefícios para a saúde, abrem-se novas oportunidades para a indústria, promovendo o bem-estar e a inovação.

3. Desenvolvimento econômico regional: Gerar oportunidades de renda para as comunidades locais, respeitar o meio ambiente proporcionando um modelo econômico sustentável para os agricultores locais, aumentar a demanda por produtos regionais estimulando a economia local e promovendo reconhecimento dos produtos da região.

4. Valorização do conhecimento tradicional: Reconhecemos a importância de preservar e promover o conhecimento tradicional sobre o uso sustentável dos recursos naturais, como o buriti. Esta invenção contribui para aumentar a conscientização sobre os benefícios nutricionais e econômicos dessa planta, incentivando práticas de cultivo e colheita sustentáveis, e honrando as tradições das comunidades locais.

5. Alternativa natural aplicada ao tratamento e prevenção das doenças cardiometabólicas: As doenças cardiometabólicas englobam uma série de condições que afetam o sistema cardiovascular e o metabolismo, incluindo doenças cardíacas, hipertensão, diabetes tipo 2 e obesidade. Estas doenças são interligadas por fatores de risco comuns, como resistência à insulina, dislipidemia, inflamação crônica e obesidade abdominal. A prevalência dessas condições tem aumentado globalmente, tornando-se uma das principais causas de morbidade e mortalidade. O tratamento e manejo dessas doenças representam um grande custo para os sistemas de saúde e para os indivíduos, especificamente as bioformulações contendo co-produtos do epicarpo do buriti veiculados em azeite de oliva extra virgem oferecem vantagens significativas tanto preventivas quanto terapêuticas. Elas ajudam a prevenir e tratar uma variedade de condições de saúde, devido às suas potentes propriedades antioxidantes e hipoglicemiantes. Além disso, são sustentáveis, naturais e biodisponíveis, tornando-as uma escolha eficaz e segura para melhorar a saúde e o bem-estar.

Estágio de desenvolvimento com relação à comercialização

- () Estágio embrionário (falta muito investimento para disponibilizá-lo ao mercado)
 () Parcialmente desenvolvido (poderá ser levado ao mercado com um investimento razoável)
 (X) Desenvolvido (pode ser levado ao mercado com um investimento mínimo)

4. ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO (X) SIM () NÃO

Para o desenvolvimento da tecnologia houve pesquisa com:

(X) Animais, vegetais, microorganismos e fungos de origem brasileira.

Em caso afirmativo, especificar:

A obtenção da Fração Insaponificável do Epicarpo do Buriti - *Mauritia flexuosa* (FIEB) foi proveniente do extrato apolar do epicarpo do buriti que é obtido por um processo de extração a frio conhecido como maceração e que utilizou como solvente o hexano.

() Material genético ou protéico proveniente de organismos da flora ou fauna brasileira, mesmo que a partir de banco de dados ou informações de artigos científicos.

Em caso afirmativo, especificar:

() Conhecimento tradicional associado à biodiversidade*.

Em caso afirmativo, especificar:

* Acesso a conhecimento tradicional associado à biodiversidade: obtenção de informação sobre conhecimento ou prática individual ou coletiva, associada ao patrimônio genético, de comunidade indígena ou de comunidade local ou tradicional, para fins de pesquisa científica, desenvolvimento tecnológico ou bioprospecção, visando sua aplicação industrial ou de outra natureza.

5. ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

O estado da técnica

O desenvolvimento de novos produtos com qualidade nutricional e funcional superior, vem se tornando uma prática cada vez mais presente no segmento alimentício e farmacêutico. São inúmeros os benefícios que se busca com as novas formulações, dentre eles se destacam as atividades antioxidante, hipolipemiante, hipoglicemiante, antitumoral, neurocomportamental, fotoprotetora, quimiopreventiva, dentre outras.

Nessa perspectiva a presente invenção trás como foco principal o incremento das propriedades nutricionais e funcionais, proporcionadas pelo extrato hexânico e fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*), ao azeite de oliva, dessa forma potencializando os benefícios que este produto já possui por meio da adição de compostos bioativos, como fitoesteróis, tocoferóis e triterpenos, ligados à melhoria da saúde geral além de auxiliar na prevenção de diversas doenças crônicas.

Para subsidiar o desenvolvimento da presente invenção fez-se a busca de anterioridade nas bases de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI), no *European Patent Office* (EPO), no *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) e na *World Intellectual Property Organization* (WIPO), utilizando os descritores: insaponificável (*unsaponifiable*), *Mauritia flexuosa*, azeite de oliva (*olive oil*), observado o surgimento dos mesmos no título, resumo e/ou texto completo. O objetivo da busca de anterioridade foi realizar um levantamento de possíveis produtos que contivesse a mesma formulação ou formulação semelhante à proposta nesta patente, para isso os três descritores foram combinados entre si.

Após a busca se pôde observar que em nenhum dos bancos de patentes foram encontrados documentos que antecederam ou sugeriram os ensinamentos da atual invenção, somente relatos direcionados para a mesma temática, estes descritos a seguir.

Em 2004 foi publicada a patente [Platt, D; Pelled, D; Shulmana, A. Nutriente dietético ou suplemento alimentar compreendendo uma composição comestível, bem como uma composição farmacêutica oralmente administrável e respectivos usos. INPI. **PI 0407338-0 A**. 2004] a qual propôs a criação de óleos enriquecidos com ésteres de fitoesteróis e diacilgliceróis, cujo objetivo era obter produtos capazes de reduzir níveis sanguíneos de colesterol total, LDL colesterol e triglicerídeos, além de reduzir o nível de oxidação lipídica. Nesta patente os constituintes da formulação foram diacilgliceróis, principalmente 1,3-diacilglicerol e éster de fitostanol e/ou fitosterol, este dissolvidos ou dispersos em óleo comestível e/ou gordura comestível, com preferência para o azeite de oliva, óleo de canola ou de peixe.

A invenção [Petrini, L; Petrini, F. Vitaminas adicionadas com óleo comestível que favoreçam a assimilação de cálcio. EPO. **WO2004066754 A1**. 2004], também teve como finalidade o uso terapêutico, objetivando melhorar a assimilação do cálcio contido nos alimentos. Dessa forma adicionou-se vitaminas D3 e K1 ao azeite. Em vista ao grupo de vegetarianos e veganos, estes com uma predisposição maior a algumas deficiências nutricionais, a patente [Fonseca, P. Óleo comestível com adição de vitaminas. EPO. **EP3747272A1**. 2020] também trás como estratégia a adição de vitaminas D2 ou D3, B12 e B6 a um óleo comestível, este podendo compreender um ou mais azeite ou óleo de semente. O produto final, disposto na forma oleosa, possui consideráveis características organolépticas, sendo direcionado para o uso como tempero de alimentos.

Em 2008, a patente [Gomes, L.J. Complemento alimentar para auxiliar no tratamento e controle de problemas no sistema respiratório. INPI. **PI 0602738-5 A**. 2008.] buscou desenvolver um produto coadjuvante no tratamento de problemas no sistema respiratório, este sendo formulados com 30 a 40% de *Achyrocline satureioides*, conhecida popularmente como Macela, e de 60 a 70% de azeite de oliva puro. Com foco na suplementação alimentar em terapias nutricionais, enteral e parenteral, em 2011, foi publicada a patente [Vasconcelos, P. R. L. Preparações à base de peixes e óleos vegetais usados como suplemento nutricional. EPO. **WO2011113128A1**. 2011]. Esta trás formulações com base em combinações de três a cinco tipos de óleos, extraídos de canola, linhaça, peixe, azeitona, coco, girassol, palma e o ácido graxo docosahexaenóico (DHA). O objetivo desta invenção é fornecer um suplemento que atenda a uma proporção de ácidos graxos ômega-6 (ácido linoléico) para ômega-3 (ácido alfa-linoléico) variando de 1,4:1,0 a 8,0:1,0 e um teor de ômega-9 (ácido oleico) para ômega-6 (ácido linoléico) variando de 3,1:1,0 a 3,8:10.

Outra patente com foco na terapia nutricional parenteral foi a [Denkinger, M.; Schlotzer, E.; La Fuente, E.B.; Quinchabustamente, L.A.; Gallegos-Montes, C. Emulsão de lipídios para administração parenteral. INPI. **BR 112020023199-1 A2**. 2020.] A invenção refere-se à formulação de emulsões lipídicas para administração parenteral, particularmente à recém-nascidos. A composição inclui 10 a 30% de uma fase lipídica compreendendo óleo de soja, triglicerídeos de cadeia média, azeite de oliva e óleo de peixe, e pelo menos 20 mg de campesterol, 25 mg de estigmasterol, 100 mg de beta sitosterol, para cada 100 g da fase lipídica.

Em três patentes a otimização do azeite de oliva se deu pela adição de outras partes da mesma planta, a *Olea europaea* L. Na patente [Pacetta, C.F. Composto de azeite de oliva acrescido de folhas de oliveira e processo de produção. INPI. **PI0902441-7 A2**. 2011.] houve o enriquecimento por meio da adição de folhas de oliveira ao azeite de oliva extra virgem, buscando potencializar o desempenho dos benefícios deste óleo vegetal na saúde humana. Na invenção [Rodrigues, G.C.L. Azeite com o fruto azeitona. INPI. **BR 10 2012 032328-1 A2**. 2013] o diferencial foi a criação de um azeite de oliva com a dispersão do fruto azeitona no seu volume, tendo como objetivo central aspectos sensoriais, ao se obter um azeite com sabor e aroma característico do tipo de fruto utilizado na produção, além de gerar para o consumidor a garantia de que o azeite foi produzido a partir da referido fruto. Na mesma perspectiva a invenção [Leonardi, M.; Mocetti, I. Um método de preparação de um produto de óleo

comestível tendo um maior prazo de conservação e o produto de óleo comestível assim obtido. INPI. **BR 112019001550-7 A2**. 2018] traz traços semelhantes aos da patente supracitada, no entanto como uma melhor padronização e com técnicas para obtenção de qualidade. Assim esta envolve um método de preparação de um azeite de oliva extra virgem com a inserção de um número predeterminado de azeitonas inteiras (1 a 5% de polifenóis) a em um determinado volume de óleo comestível, estas sendo submetidas previamente à radiações ionizantes (2,5 a 15 kgray).

A patente [Marques, C.A.C. Composto de azeite de oliva extra virgem aditivado com extrato concentrado de *Hibiscus sabdariffa*. INPI. **BR 102017017578-2 A2**. 2017.] idealizou um composto de azeite de oliva extra virgem aditivado com extrato concentrado de *Hibiscus sabdariffa* com o intuito de reunir em um único produto alimentício os benefícios para a saúde proporcionados pelas duas espécies, assim obtendo um composto de fácil uso e consumo, de sabor agradável e de vasta aplicabilidade, caracterizando-se como uma possibilidade promissora para a utilização do *Hibiscus sabdariffa* na rotina alimentar.

Em 2018, o emprego da nanotecnologia ficou evidente nesta temática em estudo. A invenção [Pegani, A.A.C. et al. Azeite de oliva enriquecido com microcápsulas de tomate. INPI. **BR 102017008475-2 A2**. 2018.] propôs a produção de microcápsulas de tomate para enriquecimento do azeite de oliva, objetivando obter um produto com acréscimos de propriedades funcionais à saúde, além de estabilidade das mesmas. A proposta para o produto é a obtenção de um azeite rico em constituintes nutricionais, além de ser uma fonte de antioxidantes que previne contra doenças cancerígenas e coronarianas.

São inúmeras as invenções ligadas à fortificação do azeite de oliva ou combinações de produtos lipídicos, no entanto nenhuma tem descrição semelhante à proposta nesta patente, envolvendo adição de componentes da *Mauritia flexuosa*, destinada para o consumo oral.

Na perspectiva de produtos e subprodutos derivados da *Mauritia flexuosa* direcionados à suplementação alimentar, a patente [Pereira, P.M.P. et al. Agente antioxidante para aplicação em formulações de medicamentos, cosméticos e alimentos a partir do epicarpo em pó da *Mauritia flexuosa*. INPI. **BR 102018005239-0 A2**. 2019.] dispõe sobre o uso do epicarpo de *Mauritia flexuosa* liofilizado em pó, usado como agente antioxidante para aplicação em formulações de medicamentos, cosméticos, alimentos e produtos nutracêuticos. O produto caracteriza-se com significativa

capacidade antioxidante, confirmada em várias concentrações (0,5-8 mg/mL) contra o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), ácido 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS), óxido nítrico (NO), bem como a sua capacidade de transferir elétrons pelo potencial redutor e de inibir o dano oxidativo induzido em eritrócitos pelo dihidrocloridrato de 2-2-azobis 2-metilpropinamida. Desta forma a invenção possui excelentes possibilidades de aplicação em diversos produtos biotecnológicos, atuando como agente antioxidante natural.

Em 2022 a patente [Nunes et al. Composição farmacêutica de um sistema líquido cristalino contendo óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) Com propriedade cicatrizante e antimicrobiana. INPI. **BR 102021010501-1 A2**. 2022] propõe a invenção de uma composição farmacêutica semissólida do tipo líquido cristalina com atividade cicatrizante e antimicrobiana, desenvolvida a partir de manteiga vegetal de murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.), óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.), tensoativo não iônico e solvente, a fim de obter uma formulação com fase líquido cristalina com atividade cicatrizante e antimicrobiana, capaz de apresentar maior tempo de aderência e liberação sustentada de fármacos e/ou substâncias ativas.

Outro produto desenvolvido com base nas características funcionais do buriti está descrito na patente [Ferreira et al. Gel alimentício de mesocarpo de *Mauritia flexuosa* com aplicação na área de prevenção e/ou como coadjuvante terapêutico no tratamento de dislipidemias, doenças inflamatórias e estresse oxidativo. INPI. **BR 102022023446-9 A2**. 2024]. Esta descreve um gel alimentício, assim como seu respectivo processo de obtenção. O produto é obtido a partir do pó liofilizado do mesocarpo de *Mauritia flexuosa*, apresentando um elevado potencial para uso como alimento funcional, em consistência de gel, com aplicação na área de prevenção e/ou tratamento de dislipidemias, doenças inflamatórias e estresse oxidativo, devido suas ações hipolipemiante, antiinflamatória, antioxidante, podendo contribuir para melhorar a qualidade de vida de portadores de algumas doenças crônicas, a exemplo da Síndrome Metabólica.

De acordo como as buscas literárias realizadas e sumariamente descritas acima ficou comprovado que não existem relatos antecipando a proposta da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica, que consiste na obtenção e caracterização de um azeite de oliva extra virgem adicionado da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*).

Exemplifique empresas que poderiam ter interesse em distribuir esta nova tecnologia.

1. Indústria alimentícia

Declaro que todas as informações acima descritas e anexadas a este formulário são verdadeiras e, assim como os demais inventores, relacionados em documento anexo, me comprometo pelo sigilo e confidencialidade das mesmas.

DATA: 17/07/2024

Stella Regina Arcanjo Medeiros

Observações

1. Todos os inventores relacionados à presente invenção se responsabilizam, mediante a legislação vigente, pela segurança das informações descritas neste Relatório de Invenção.
2. **ESTE RELATÓRIO NÃO PODERÁ SER ALTERADO, OU SEJA, NENHUM DOS ITENS PODERÁ SER EXCLUÍDO. CASO O INVENTO NÃO SE APLIQUE A ALGUM ITEM, DEIXAR EM BRANCO.**
3. Este “Relatório de Invenção” será recebido e protocolado no NINTEC somente mediante a ciência e assinatura do chefe de departamento ou do coordenador de pós-graduação e de cada um dos inventores se responsabilizando pelo percentual de participação no desenvolvimento da tecnologia, sendo anexado a este o formulário “Anexo – Dados dos Inventores” devidamente preenchido.
4. Todo o Relatório de Invenção deve ser preenchido eletronicamente. Assim, não será admitido qualquer rasura ou correção a caneta ou lápis.
5. O NINTEC terá até 30 dias úteis para dar um parecer favorável ou não à solicitação, contados a partir do protocolo do presente relatório e mais 60 dias úteis para depósito do pedido, contados da aprovação da solicitação pelo COMPITEC (Conselho de Propriedade Intelectual e Transferência de Tecnologia do NINTEC/UFPI).

RELATÓRIO DESCRITIVO

BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa* L. f.

[0045] As bioformulações contendo coprodutos do epicarpo da *Mauritia flexuosa*”, caracterizada por compreender as seguintes bioformulações denominadas de OHE-BE (*olive oil with hexanic extract*) e OUF-BE (*olive oil with unsaponifiable fraction*), solubilizadas por conter: Faixas de (3 a 15 %) preferencialmente nas concentrações de 6 % e 12,5 % do extrato hexânico ou fração insaponificável extraída do epicarpo do buriti, cem por cento natural e isento de outras substâncias; e (85 a 97%) preferencialmente na concentração de 87 % de azeite de oliva extra virgem, acidez máxima entre 0,1 e 0,5%.

[0046] A presente invenção diz respeito ao aproveitamento integral do epicarpo da *Mauritia flexuosa* L.f. na obtenção de bioformulações contendo os coprodutos do epicarpo (extrato hexânico e fração insaponificável) veiculados em azeite de oliva extra virgem, com acidez máxima de 0,1% a 0,5%. Especificamente, bioformulações contendo coprodutos do epicarpo (extrato hexânico e fração insaponificável) *Mauritia flexuosa* L.f. consiste no invento com potencialidade preventiva e terapêutica em virtude da presença de vários compostos biologicamente ativos (CBA) que atuam no papel metabólico reduzindo o risco de doenças crônicas relacionadas à hiperglicemia e ao estresse oxidativo, bem como melhoram perfis lipídicos contribuindo para a saúde cardiovascular, devido às propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras, quimiopreventivas, entre outras. Esta invenção está inserida na área de biotecnologia, farmacológica, alimentícia, especificamente na área de suplementos alimentares.

[0047] O buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) é a palmeira mais abundante no Brasil e amplamente encontrada na Amazônia e no Cerrado. Além disso, também pode ser encontrado em outros países da América do Sul, incluindo Colômbia, Peru, Equador, Bolívia, Venezuela e Guiana. A palmeira buriti pertence à família *Arecaceae* e possui tronco reto e cilíndrico que pode atingir até 35 m de altura, produzindo frutos cobertos por escamas marrom-avermelhadas e delgada camada de polpa amarela que pode ser consumida na forma de sucos, doces, sorvetes, picolés, geléias e vinhos (RESENDE, L. M. FRANCA, A. S.; & OLIVEIRA, L. S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-

products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 270, p. 53–60, 2019. RUDKE, A. R.; MAZZUTTI, S.; ANDRADE, K. S.; VITALI, L.FERREIRA, S. R. S. Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. **Food Chemistry**, v.298, 2019).

[0048] O epicarpo do buriti possui uma elevada concentração de ácidos graxos monoinsaturados (68,2%) em especial para o ácido oleico, com 67,4% da matriz seca, evidenciando também a presença de ácidos graxos poliinsaturados, com uma concentração de 2,1% de ácido linoleico. Outro ponto importante a ser destacado é a presença de fitoesteróis no epicarpo do buriti, sendo a única parte do fruto que evidenciou quantidades deste grupo bioativo, com predominância para o β -sitosterol (1,4%) (PEREIRA-FREIRE, J.A. et al. Nutritional, physicochemical and structural parameters of *Mauritia flexuosa* fruits and by-products for biotechnological exploration of sustainable goods. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 155-165, 2022).

[0049] Os fitoesteróis, são uma classe de compostos lipofílicos encontrados em plantas com alta semelhança estrutural com o colesterol, uma molécula bem conhecida encontrada endogenamente em humanos, particularmente notória por sua relação com doenças cardiovasculares (DCV). Os fitoesteróis são componentes das membranas das plantas que, assim como o colesterol, regulam a fluidez e a permeabilidade da membrana (Tian Zhao, Bowen Yang, Shengyang Ji, Jingyang Luo, Yan Liu, Yongheng Zhong, Baiyi Lu. Effects of the structure and interaction force of phytosterol/whey protein isolate self-assembly complex on phytosterol digestion properties, **Food Chemistry**, v. 403, 2023).

[0050] Como os fitoesteróis não podem ser produzidos endogenamente, eles são obtidos a partir da ingestão de vegetais, frutas, grãos, cereais, óleos vegetais e margarinas. De fato, os fitoesteróis já são descritos na literatura por seu efeito de redução do colesterol, em virtude de sua ação hipolipidêmica, atuando na diminuição do risco de doenças cardiovasculares (PESSOA, M. L. dos S. B.; SPÍNDOLA, M. R. S.; LEÃO, G. M. B.; MOURA, C. B. da S.; ROCHA, D. de L.; PEREIRA-FREIRE, J. A.; MEDEIROS, S. R. A. Evidências experimentais e clínicas sobre o efeito dos fitoesteróis e fitoestanóis na prevenção das dislipidemias. **Nutrivisa - Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, Fortaleza, v. 11, n. 1, p. e12912, 2024; LI, X.; XIN, Y.; MO, Y.; MAROZIK, P.; HE, T.; GUO, H. The Bioavailability and Biological

Activities of Phytosterols as Modulators of Cholesterol Metabolism. **Molecules**, v.27, n.2, p.523, 2022.).

[0051] O β -sitosterol (SIT), componente bioativo mais abundante do óleo vegetal e de outras plantas, é um fitoquímico com ação hipoglicemiante altamente potente que atua no controle glicêmico através da ativação de receptores de insulina (IR) e GLUT4, conforme demonstrado em modelo animal, no tecido adiposo de ratos diabéticos tipo 2 alimentados com dieta induzida com alto teor de gordura e sacarose. Outro ponto a destacar é que nesse mesmo estudo, a análise *in silico* coincidiu com os resultados *in vivo*. Os autores afirmam que as propriedades hipoglicemiantes do β -sitosterol são altamente equivalentes às exercidas pelos medicamentos hipoglicemiantes convencionais, incluindo a metformina (PONNULAKSHMI, R.SHYAMALADEVI, B.; VIJAYALAKSHMI, P.; SELVARAJ, J. *In silico* and *in vivo* analysis to identify the antidiabetic activity of beta sitosterol in adipose tissue of high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic experimental rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, p. 276-290, 2019; JAYARAMAN, S.; DEVARAJAN, N.; RAJAGOPAL, P.BABU, S.; GANESAN, S.K.; VEERARAGHAVAN, V.P.; PALANISAMY, C.P.; CUI, B.; PERIYASAMY, V.; CHANDRASEKAR, K. β -Sitosterol Circumvents Obesity Induced Inflammation and Insulin Resistance by down-Regulating IKK β /NF- κ B and JNK Signaling Pathway in Adipocytes of Type 2 Diabetic Rats. **Molecules**, v. 26, n. 2101, 2021).

[0052] A *Food and Drug Administration* (FDA) e a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) reconhecem os fitoesteróis como “seguros” e autorizaram alegações de saúde relativas à redução do risco de doença cardíaca coronária com uma ingestão diária de pelo menos 2 g/dia (LYU, Q.; CHEN, L.; LIN, S.; CAO, H.; TENG, H. A designed self-microemulsion delivery system for dihydromyricetin and its dietary intervention effect on high-fat-diet fed mice. **Food Chemistry**, v. 390, 2022). Essas alegações de saúde a partir da ingestão dos fitoesteróis levou a um aumento da disponibilidade e consumo de alimentos fortificados com fitosterol e suplementos alimentares. A ingestão diária em uma dieta ocidental típica é em média de cerca de 300 mg para fitoesteróis e 20 mg para fitoestanóis (YANG, B.; ZHAO, T.; JI, S.; LIU, Y.; XU, M.; LU, B. Molecular dynamics simulations of the interfacial behaviors and photo-oxidation of phytosterol under different emulsion oil content. **Food Chemistry**, v. 451, 2023). No entanto, o enriquecimento de produtos alimentícios com fitoesteróis é difícil, devido à sua fraca solubilidade em gorduras e à

sua insolubilidade em água (RACZYK, M.; KMIECIK, D.; PRZYBYLSKI, R.; RUDZIŃSKA, M. Effect of Fatty Acid Unsaturation on Phytosteryl Ester Degradation. **J Am Oil Chem Soc**, v. 97, p. 701-711, 2017).

[0053] A extração dos constituintes químicos existentes no coprodutos como extrato hexano e fração insaponificável do epicarpo da *Mauritia flexuosa* L.f. é importante para aplicação destes em biotecnologia sustentável, indústria alimentícia e farmacêutica, proporcionando maiores possibilidades de uso do fruto de buriti de forma integral, como corantes naturais e/ou produção de bioalimentos com alegação nutricional e com propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, proporcionando maior valor nutricional aos alimentos e reduzindo os custos, uma vez que emprega coprodutos da agroindústria brasileira, agregando propriedades nutricionais e atividades biológicas aos alimentos enriquecidos a partir da presente invenção.

[0054] Desta forma, esta invenção emprega de forma inovadora o extrato hexânico e a fração insaponificável oriundos do epicarpo do buriti, permitindo viabilizar o aproveitamento integral do epicarpo no desenvolvimento de novos produtos a partir de resíduos, buscando reduzir desperdícios agroindustriais e convertê-los em coprodutos ou matérias primas de maior valor econômico, com possibilidade de aplicação em diversas áreas biotecnológicas.

[0055] O desenvolvimento de novos produtos com qualidade nutricional e funcional superior, vem se tornando uma prática cada vez mais presente no segmento alimentício e farmacêutico. São inúmeros os benefícios que se busca com as novas formulações, dentre eles se destacam as atividades antioxidante, hipolipemiante, hipoglicemiante, antitumoral, neurocomportamental, fotoprotetora, quimiopreventiva, dentre outras.

[0056] Nessa perspectiva a presente invenção trás como foco principal o incremento das propriedades nutricionais e funcionais, proporcionadas pelo extrato hexânico e fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*), ao azeite de oliva, dessa forma potencializando os benefícios que este produto já possui por meio da adição de compostos bioativos, como fitoesteróis, tocoferóis e triterpenos, ligados à melhoria da saúde geral além de auxiliar na prevenção de diversas doenças crônicas.

[0057] Para subsidiar o desenvolvimento da presente invenção fez-se a busca de anterioridade nas bases de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI), no *European Patent Office* (EPO), no *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) e na *World Intellectual Property Organization* (WIPO),

utilizando os descritores: insaponificável (*unsaponifiable*), *Mauritia flexuosa*, azeite de oliva (*olive oil*), observado o surgimento dos mesmos no título, resumo e/ou texto completo. O objetivo da busca de anterioridade foi realizar um levantamento de possíveis produtos que contivesse a mesma formulação ou formulação semelhante à proposta nesta patente, para isso os três descritores foram combinados entre si.

[0058] Após a busca se pôde observar que em nenhum dos bancos de patentes foram encontrados documentos que antecederam ou sugeriram os ensinamentos da atual invenção, somente relatos direcionados para a mesma temática, estes descritos a seguir.

[0059] Em 2004 foi publicada a patente [Platt, D; Pelled, D; Shulmana, A. Nutriente dietético ou suplemento alimentar compreendendo uma composição comestível, bem como uma composição farmacêutica oralmente administrável e respectivos usos. INPI. **PI 0407338-0 A**. 2004] a qual propôs a criação de óleos enriquecidos com ésteres de fitoesteróis e diacilgliceróis, cujo objetivo era obter produtos capazes de reduzir níveis sanguíneos de colesterol total, LDL colesterol e triglicerídeos, além de reduzir o nível de oxidação lipídica. Nesta patente os constituintes da formulação foram diacilgliceróis, principalmente 1,3-diacilglicerol e éster de fitostanol e/ou fitosterol, este dissolvidos ou dispersos em óleo comestível e/ou gordura comestível, com preferência para o azeite de oliva, óleo de canola ou de peixe.

[0060] A invenção [Petrini, L; Petrini, F. Vitaminas adicionadas com óleo comestível que favoreçam a assimilação de cálcio. EPO. **WO2004066754 A1**. 2004], também teve como finalidade o uso terapêutico, objetivando melhorar a assimilação do cálcio contido nos alimentos. Dessa forma adicionou-se vitaminas D3 e K1 ao azeite. Em vista ao grupo de vegetarianos e veganos, estes com uma predisposição maior a algumas deficiências nutricionais, a patente [Fonseca, P. Óleo comestível com adição de vitaminas. EPO. **EP3747272A1**. 2020] também trás como estratégia a adição de vitaminas D2 ou D3, B12 e B6 a um óleo comestível, este podendo compreender um ou mais azeite ou óleo de semente. O produto final, disposto na forma oleosa, possui consideráveis características organolépticas, sendo direcionado para o uso como tempero de alimentos.

[0061] Em 2008, a patente [Gomes, L.J. Complemento alimentar para auxiliar no tratamento e controle de problemas no sistema respiratório. INPI. **PI 0602738-5 A**. 2008.] buscou desenvolver um produto coadjuvante no tratamento de problemas no sistema respiratório, este sendo formulados com 30 a 40% de *Achyrocline satureioides*, conhecida popularmente como Macela, e de 60 a 70% de azeite de oliva puro. Com

foco na suplementação alimentar em terapias nutricionais, enteral e parenteral, em 2011, foi publicada a patente [Vasconcelos, P. R. L. Preparações à base de peixes e óleos vegetais usados como suplemento nutricional. EPO. **WO2011113128A1**. 2011]. Esta trás formulações com base em combinações de três a cinco tipos de óleos, extraídos de canola, linhaça, peixe, azeitona, coco, girassol, palma e o ácido graxo docosahexaenóico (DHA). O objetivo desta invenção é fornecer um suplemento que atenda a uma proporção de ácidos graxos ômega-6 (ácido linoléico) para ômega-3 (ácido alfa-linoléico) variando de 1,4:1,0 a 8,0:1,0 e um teor de ômega-9 (ácido oleico) para ômega-6 (ácido linoléico) variando de 3,1:1,0 a 3,8:10.

[0062] Outra patente com foco na terapia nutricional parenteral foi a [Denkinger, M.; Schlotzer, E.; La Fuente, E.B.; Quinchabustamente, L.A.; Gallegos-Montes, C. Emulsão de lipídios para administração parenteral. INPI. **BR 112020023199-1 A2**. 2020.] A invenção refere-se à formulação de emulsões lipídicas para administração parenteral, particularmente à recém-nascidos. A composição inclui 10 a 30% de uma fase lipídica compreendendo óleo de soja, triglicerídeos de cadeia média, azeite de oliva e óleo de peixe, e pelo menos 20 mg de campesterol, 25 mg de estigmasterol, 100 mg de beta sitosterol, para cada 100 g da fase lipídica.

[0063] Em três patentes a otimização do azeite de oliva se deu pela adição de outras partes da mesma planta, a *Olea europaea* L. Na patente [Pacetta, C.F. Composto de azeite de oliva acrescido de folhas de oliveira e processo de produção. INPI. **PI0902441-7 A2**. 2011.] houve o enriquecimento por meio da adição de folhas de oliveira ao azeite de oliva extra virgem, buscando potencializar o desempenho dos benefícios deste óleo vegetal na saúde humana. Na invenção [Rodrigues, G.C.L. Azeite com o fruto azeitona. INPI. **BR 10 2012 032328-1 A2**. 2013] o diferencial foi a criação de um azeite de oliva com a dispersão do fruto azeitona no seu volume, tendo como objetivo central aspectos sensoriais, ao se obter um azeite com sabor e aroma característico do tipo de fruto utilizado na produção, além de gerar para o consumidor a garantia de que o azeite foi produzido a partir da referido fruto. Na mesma perspectiva a invenção [Leonardi, M.; Mocetti, I. Um método de preparação de um produto de óleo comestível tendo um maior prazo de conservação e o produto de óleo comestível assim obtido. INPI. **BR 112019001550-7 A2**. 2018] traz traços semelhantes aos da patente supracitada, no entanto como uma melhor padronização e com técnicas para obtenção de qualidade. Assim esta envolve um método de preparação de um azeite de oliva extra virgem com a inserção de um número predeterminado de azeitonas inteiras (1 a 5% de

polifenóis) a em um determinado volume de óleo comestível, estas sendo submetidas previamente à radiações ionizantes (2,5 a 15 kgray).

[0064] A patente [Marques, C.A.C. Composto de azeite de oliva extra virgem aditivado com extrato concentrado de *Hibiscus sabdariffa*. INPI. **BR 102017017578-2 A2**. 2017.] idealizou um composto de azeite de oliva extra virgem aditivado com extrato concentrado de *Hibiscus sabdariffa* com o intuito de reunir em um único produto alimentício os benefícios para a saúde proporcionados pelas duas espécies, assim obtendo um composto de fácil uso e consumo, de sabor agradável e de vasta aplicabilidade, caracterizando-se como uma possibilidade promissora para a utilização do *Hibiscus sabdariffa* na rotina alimentar.

[0065] Em 2018, o emprego da nanotecnologia ficou evidente nesta temática em estudo. A invenção [Pegani, A.A.C. et al. Azeite de oliva enriquecido com microcápsulas de tomate. INPI. **BR 102017008475-2 A2**. 2018.] propôs a produção de microcápsulas de tomate para enriquecimento do azeite de oliva, objetivando obter um produto com acréscimos de propriedades funcionais à saúde, além de estabilidade das mesmas. A proposta para o produto é a obtenção de um azeite rico em constituintes nutricionais, além de ser uma fonte de antioxidantes que previne contra doenças cancerígenas e coronarianas.

[0066] São inúmeras as invenções ligadas à fortificação do azeite de oliva ou combinações de produtos lipídicos, no entanto nenhuma tem descrição semelhante à proposta nesta patente, envolvendo adição de componentes da *Mauritia flexuosa*, destinada para o consumo oral.

[0067] Na perspectiva de produtos e subprodutos derivados da *Mauritia flexuosa* direcionados à suplementação alimentar, a patente [Pereira, P.M.P. et al. Agente antioxidante para aplicação em formulações de medicamentos, cosméticos e alimentos a partir do epicarpo em pó da *Mauritia flexuosa*. INPI. **BR 102018005239-0 A2**. 2019.] dispõe sobre o uso do epicarpo de *Mauritia flexuosa* liofilizado em pó, usado como agente antioxidante para aplicação em formulações de medicamentos, cosméticos, alimentos e produtos nutracêuticos. O produto caracteriza-se com significativa capacidade antioxidante, confirmada em várias concentrações (0,5-8 mg/mL) contra o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), ácido 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS), óxido nítrico (NO), bem como a sua capacidade de transferir elétrons pelo potencial redutor e de inibir o dano oxidativo induzido em eritrócitos pelo dihidrocloridrato de 2-2-azobis 2-metilpropinamida. Desta forma a invenção possui

excelentes possibilidades de aplicação em diversos produtos biotecnológicos, atuando como agente antioxidante natural.

[0068] Em 2022 a patente [Nunes et al. Composição farmacêutica de um sistema líquido cristalino contendo óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) Com propriedade cicatrizante e antimicrobiana. INPI. **BR 102021010501-1 A2**. 2022] propõe a invenção de uma composição farmacêutica semissólida do tipo líquido cristalina com atividade cicatrizante e antimicrobiana, desenvolvida a partir de manteiga vegetal de murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.), óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.), tensoativo não iônico e solvente, a fim de obter uma formulação com fase líquido cristalina com atividade cicatrizante e antimicrobiana, capaz de apresentar maior tempo de aderência e liberação sustentada de fármacos e/ou substâncias ativas.

[0069] Outro produto desenvolvido com base nas características funcionais do buriti está descrito na patente [Ferreira et al. Gel alimentício de mesocarpo de *Mauritia flexuosa* com aplicação na área de prevenção e/ou como coadjuvante terapêutico no tratamento de dislipidemias, doenças inflamatórias e estresse oxidativo. INPI. **BR 102022023446-9 A2**. 2024]. Esta descreve um gel alimentício, assim como seu respectivo processo de obtenção. O produto é obtido a partir do pó liofilizado do mesocarpo de *Mauritia flexuosa*, apresentando um elevado potencial para uso como alimento funcional, em consistência de gel, com aplicação na área de prevenção e/ou tratamento de dislipidemias, doenças inflamatórias e estresse oxidativo, devido suas ações hipolipemiante, antiinflamatória, antioxidante, podendo contribuir para melhorar a qualidade de vida de portadores de algumas doenças crônicas, a exemplo da Síndrome Metabólica.

[0070] De acordo como as buscas literárias realizadas e sumariamente descritas acima ficou comprovado que não existem relatos antecipando a proposta da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica, que consiste na obtenção e caracterização de um azeite de oliva extra virgem adicionado da fração insaponificável do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*).

[0071] A principal inovação das bioformulações trata-se de produtos que proporcionam uma veiculação natural e saudável de compostos bioativos dos coprodutos do epicarpo do buriti, podendo atuar como preventivo ou coadjuvante no tratamento de várias desordens metabólicas. A presente invenção possui uma proposta de aplicação na indústria alimentícia, de um coproduto agroindustrial de excelente potencial nutricional

e que possui propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, anti-inflamatória, dentre outras. Importante destacar que a aplicação de coprodutos como o epicarpo, são essenciais para ampliar as opções de novos produtos sustentáveis que proporcionem múltiplos benefícios à saúde, e que gerem, inclusive, rendimento e segurança alimentar para as comunidades locais e regionais.

[0072] A bioformulação utilizando o extrato ou fração insaponificável do epicarpo do buriti representa uma inovação promissora na indústria alimentícia, combinando benefícios nutricionais robustos com sustentabilidade ambiental e impacto social positivo. Essa abordagem não apenas diversifica a oferta de produtos alimentícios, mas também fortalece as economias locais e regionais, oferecendo produtos que promovem a saúde e o bem-estar globalmente.

[0073] A atividade biológica da fração insaponificável do epicarpo do buriti, demonstrou ter significativa redução na glicemia, nas EROs do tecido cerebral e hepático de animais hiperglicêmicos além de melhorar o perfil lipídico, destacando assim o seu potencial terapêutico. A eficácia na redução dos níveis de EROs, superando a metformina, aponta para a forte capacidade antioxidante e anti-inflamatória dessas bioformulações.

[0074] O uso de coprodutos advindos do epicarpo do buriti para desenvolver bioformulações é uma abordagem sustentável que valoriza recursos naturais nativos da Amazônia e do Cerrado. A exploração sustentável do buriti pode contribuir para a preservação das palmeiras e apoiar a economia local, proporcionando uma fonte de renda para comunidades ribeirinhas. A extração de componentes bioativos do buriti, se realizada de forma sustentável, contribui para a conservação das palmeiras e seus ecossistemas. A produção e comercialização de bioformulações derivadas do buriti podem gerar emprego e renda para as comunidades locais, incentivando a preservação ambiental. A presente invenção de bioformulações contendo coprodutos do epicarpo do buriti, em diferentes concentrações, representa um avanço significativo na busca por tratamentos naturais e eficazes para o diabetes mellitus e outras condições associadas ao estresse oxidativo. A inovação não só apresenta uma alternativa terapêutica potente, mas também promove a sustentabilidade e o uso consciente de recursos naturais.

[0075] A presente invenção refere-se, portanto, as bioformulações contendo coprodutos do epicarpo do buriti, o extrato hexânico e a fração insaponificável, veiculados em azeite de oliva extra virgem, com acidez máxima de 0,1% a 0,5%, caracterizada por um perfil favorável de segurança e eficácia na prevenção e redução

de fatores de risco relacionados ao desenvolvimento de doenças cardiometabólicas crônicas.

[0076] O objeto da presente invenção é o bioproduto para uso farmacêutico ou como suplemento nutricional compreendendo a adição dos coprodutos extrato hexânico e compostos insaponificáveis extraídos do epicarpo de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) ao azeite de oliva extravirgem, preferivelmente caracterizado pelo tratamento *in vivo* realizado em modelo experimental utilizando *Danio rerio*, que consumiram bioformulações contendo extrato hexânico e fração insaponificável extraída do epicarpo do buriti, nas faixas (3 a 15 mg/mL) preferencialmente nas concentrações de 6 mg/mL e 12,5 mg/mL demonstraram excelentes resultados nos animais hiperglicêmicos. Reduziram também os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) no tecido cerebral e tecido hepático, com melhor performance nos valores acima de 12 mg/mL, em relação à metformina e ao grupo controle, demonstrando ser um potente antioxidante com viabilidade para aplicações futuras em tratamentos de distúrbios metabólicos.

[0077] Para obtenção da bioformulação foi empregado simultâneos processos de agitação e aquecimento em banho-maria (50°C), por aproximadamente 10 minutos, até a observação de uma mistura límpida e homogênea. A mistura apresentou característica homogênea, sem formação de grumos ou partículas suspensas (Figura 1).

[0078] Figura 1 - Processo de obtenção da Bioformulação: (A): 1 - Extrato Hexânico; 2 - Fração Insaponificável do epicarpo do buriti, (B) Agitação em temperatura de 50°C em banho-maria com agitação, (C) Bioformulações: 1 - OHE-BE; 2 - OUF-BE.

[0079] A obtenção dos coprodutos do epicarpo, extrato bruto hexânico e a fração insaponificável, compreendeu as seguintes etapas, conforme descrito no relatório inventivo de Depósito de Pedido de Patente Nº BR 10 2024 010620: o epicarpo foi separado do fruto, seco a 50°C em estufa à vácuo (SL 104/30 Solab®) por 72 h, transformado em pó (1 kg) por trituração e submetidos à extração por maceração a frio, utilizando-se hexano (2 L) como solvente durante 72 h. O solvente foi removido sob vácuo em rotoevaporador (Fisatom® 802), obtendo-se, assim, o extrato bruto hexânico do epicarpo do buriti. O rendimento total do extrato hexânico de *Mauritia flexuosa* foi de 2,5%. Após a evaporação do solvente, o extrato hexânico foi submetido à saponificação seguida de reação de metilação de acordo com metodologia descrita por

Hartman & Lago (1973) (Hartman, L., & Lago, R. C. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory practice**, 22 (6), 475-476, 1973), com adaptações. O rendimento total da fração insaponificável de *Mauritia flexuosa* foi de 11,0% em relação ao extrato hexânico.

[0080] Para definição das concentrações iniciais do extrato e da fração insaponificável do epicarpo do buriti, aplicadas nas bioformulações, tomou-se como base os resultados obtidos pelo teste da atividade antioxidante, verificando duas concentrações dentro da faixa de maior atividade, estas posteriormente foram submetidas ao teste de toxicidade *in vivo*, não apresentando toxicidade. Assim foram adicionadas ao azeite de oliva, obtendo bioformulações denominadas de OHE-BE (*olive oil with hexanic extract*) e OUF-BE (*olive oil with unsaponifiable fraction*), estas direcionadas para os testes *in vivo*.

[0081] A atividade antioxidante do extrato hexânico e fração insaponificável foi aferida através do método de eliminação de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), seguindo o protocolo de BLOIS (1958) (Blois, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, 1958) e pelo ensaio ABTS, realizado de acordo com MILLER et al. (1993) (MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; & MILNER, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**, v. 84, n.4, p. 407–412, 1993), estes realizados em triplicata. A porcentagem de inibição foi calculada pela fórmula: Atividade antioxidante (%) = $(A0 - A1) / A0 \times 100$; onde A0 = absorbância do controle e A1 = absorbância da amostra.

[0082] A fração insaponificável mostra uma maior eficácia antioxidante em comparação com o extrato hexânico, conforme indicado pelos valores de IC50 mais baixos para ambas as metodologias (DPPH e ABTS). Embora ambos os extratos apresentaram atividade antioxidante, eles são significativamente menos eficazes que o ácido gálico, que serve como padrão de alta eficiência antioxidante.

[0083] Tabela 1: Percentual de inibição de radicais **DPPH** e **ABTS** no extrato hexânico e na fração insaponificável.

Concentrações (mg/mL)	% Inibição			
	DPPH		ABTS	
	EH	FI	EH	FI
50	83,6	96,8	91,3	81,3

25	64,4	94,2	75,3	67,8
12,5	59,1	78,2	50,8	55,9
6,25	45,2	32,6	42,2	40,8
3,125	39,3	20,4	19,5	33,7
1,5625	7,4	7,35	5,2	22,3
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
IC ₅₀	8,1	7,92	10,15	7,92
Padrão Gálico	0,009		0,021	

EH: Extrato Hexânico; FI: Fração Insaponificável; IC₅₀ : Concentração inibitória capaz de sequestrar 50% dos compostos oxidantes no meio reacional.

[0084] O processo de obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica do epicarpo do buriti, rica em ésteres, terpenóides, fitosteróis, tocoferóis, álcoois, ácidos graxos e entre outros compostos insaponificáveis, caracterizado pelo fato de compreender as etapas sucessivas seguintes: separação do epicarpo do fruto; secagem a 50°C em estufa à vácuo por 72 h; obtenção do pó (1 kg) por trituração e extração por maceração a frio, utilizando-se hexano (2 L) por 72 h; obtenção do extrato hexânico por concentração em rotoevaporador; obtenção da fração insaponificável a partir da molécula lipídica a qual foi submetida à saponificação seguida de reação de metilação.

[0085] No teste de toxicidade aguda *in vivo*, aplicado em *Danio rerio*, os peixes (n=12) foram expostos às bioformulações contendo extrato hexânico e fração insaponificável do estudo, durante um período de 96 horas e receberam as mesmas concentrações que foram testadas em potencial antioxidante (1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 mg/mL) ou veículo (Azeite), no volume de 20 µL via oral, utilizando uma micropipeta inserida suavemente na boca dos animais. A mortalidade e anormalidades visíveis relacionadas à aparência e ao comportamento foram registrados a cada 24 horas após o início dos testes durante o período de 96 horas, conforme o guia de teste de toxicidade aguda OECD. (2019). (NO, OECD Test. 203: Fish, acute toxicity test. **OECD guidelines for the testing of chemicals, Section**, v. 2, p. 1-24).

[0086] No teste de toxicidade para a bioformulação contendo extrato hexânico ocorreu apenas uma morte no grupo controle, o que é considerado aceitável pela OECD. Em relação às bioformulações contendo fração insaponificável, foi registrado uma morte no grupo controle, o que é considerado aceitável e duas mortes na concentração de 50 mg/mL, sendo a primeira após 48 horas e a segunda após 72 horas do início do teste, o que equivale a 16,6% de mortes, o que já é considerado tóxico. Neste caso a CL50

encontrada para a fração insaponificável é >50 mg/mL, portanto um valor bem superior à concentração escolhida para ser utilizada nas bioformulações.

[0087] Para um modelo de hiperglicemia crônica induzido em peixe-zebra conforme CAPIOTTI et al. (2014) (CAPIOTTI, K. M., ANTONIOLI, R., KIST, L. W., BOGO, M. R. BONAN, C. D., & DA SILVA R. S. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 171, p. 58–65, 2014) foi utilizado para investigação do efeito das bioformulações nos parâmetros séricos e teciduais acerca do perfil glicêmico, lipídico e atividade antioxidante.

[0088] Os resultados do estudo mostraram que o tratamento com metformina e com as bioformulações, administrados via oral por seis dias em peixe-zebra hiperglicêmico, reduziram significativamente os níveis de glicemia e de frutossamina, como pode ser observado na Figura 2.

[0089] Figura 2 - Efeito do tratamento com bioformulação na glicemia e na frutossamina (glicação de proteínas) do peixe-zebra.

[0090] A redução que a metformina causou em relação à glicose e à frutossamina dos animais hiperglicêmicos foi de 65% e 52% respectivamente. Os tratamentos com as bioformulações ficaram no entorno desses valores, sendo que no tratamento da glicose a bioformulação que mais se destacou foi aquela com extrato hexânico (OHE-BE 12,5) que apresentou uma redução de 73% e para o tratamento da frutossamina a bioformulação que mais se destacou foi aquela com fração insaponificável (OHE-BE 12,5), enquanto que os tratamentos com bioformulações com fração insaponificável que apresentou uma redução de 57,0% foi a melhor, como pode ser observado na tabela 2.

[0091] Tabela 2. Média e percentual de redução de glicose e frutossamina com os tratamentos.

GRUPOS	Glicose		Frutossamina	
	Valores (mg/mL)	% Redução	Valores (mg/mL)	% Redução
Pós-indução				
Hiperglicêmicos	162,86	-	285,28	-
Tratamentos				
Metformina	57,14	65,0	136,68	52,0
OHE-BE 6,25	48,68	70,0	156,66	45,0

OHE-BE 12,5	44,55	73,0	133,46	53,0
OUF-BE 6,25	60,41	63,0	127,13	55,0
OUF-BE 12,5	65,92	60,0	123,23	57,0

OHE-BE: azeite de oliva adicionado de extrato hexânico do epicarpo do buriti; OUF-BE: azeite de oliva adicionado de fração insaponificável do epicarpo do buriti.

[0092] O efeito do tratamento no perfil lipídico demonstrou que o tratamento com a bioformulação OUF-BE 12,5 mg/mL durante 6 dias consecutivos resultou em uma redução significativa nos níveis de colesterol total (CT) e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) após o período de indução de hiperglicemia. Detalhando estes resultados, na Tabela 3, verifica-se que quanto ao colesterol total a bioformulação OUF-BE 12,5 apresentou os melhores resultados, com níveis próximos aos do grupo controle. Entre todos os tratamentos aplicados, OUF-BE 12,5 foi o mais eficaz na redução do colesterol total, indicando uma melhora significativa nos perfis lipídicos. Em relação ao LDL-c o tratamento com OUF-BE 12,5 também resultou nos melhores níveis, aproximando-os dos níveis do grupo controle. O azeite de oliva e a metformina apresentaram um desempenho inferior, não conseguindo reduzir os níveis de LDL-c a valores próximos à normalidade. Quanto ao HDL-c os piores resultados foram observados com o veículo (azeite de oliva puro) e a metformina, todas as bioformulações (OHE-BE e OUF-BE) mostraram um bom desempenho na recuperação dos níveis de HDL-c, diferenciando-se estatisticamente e retornando os valores à normalidade. VLDL e TGL não apresentaram grandes alterações entre os diferentes tratamentos, sugerindo que esses parâmetros não foram significativamente impactados pelas formulações durante o período de tratamento.

[0093] Tabela 3. Efeito do tratamento com a bioformulação no perfil lipídico

	Colesterol (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	TGL (mg/dL)
Controle	124,20 ± 4,82^a	73,12 ± 10,66^a	33,94 ± 9,90^a	28,69 ± 3,90 ^a	132,30 ± 9,31^a
Veículo	157,70 ± 7,88 ^b	48,55 ± 4,75 ^b	70,72 ± 13,66 ^b	29,83 ± 7,62 ^a	149,10 ± 38,11 ^a
Metformina	144,90 ± 20,90 ^b	48,73 ± 10,28 ^b	68,12 ± 12,98 ^b	36,93 ± 6,64 ^a	194,60 ± 18,73 ^b
OHE-BE 6,25	141,50 ± 4,48 ^b	77,25 ± 8,81^a	37,85 ± 7,05^a	29,69 ± 5,23 ^a	148,40 ± 26,44 ^a
OHE-BE 12,5	175,40 ± 12,29 ^b	85,81 ± 5,88^a	62,78 ± 8,32 ^b	25,36 ± 1,07 ^a	126,80 ± 5,36^a
OUF-BE 6,25	151,20 ± 7,17 ^b	83,81 ± 5,51^a	39,56 ± 14,11^a	26,69 ± 5,36 ^a	133,40 ± 26,83^a
OUF-BE 12,5	125,60 ± 14,36^a	54,05 ± 8,25^a	32,03 ± 17,62^a	27,78 ± 1,42 ^a	138,90 ± 7,10^a

Médias ± desvio-padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey (p < 0,005). OHE-BE: azeite de oliva adicionado de extrato hexânico do

epicarpo do buriti; OUF-BE: azeite de oliva adicionado de fração insaponificável do epicarpo do buriti.

[0094] O tratamento com as bioformulações por 6 dias, pós-indução, nos níveis de EROs no cérebro, mostrou que ambas as doses de OHE-BE (6,25 mg/mL e 12,5 mg/mL) não se diferenciam estatisticamente da metformina, sugerindo que essas doses possuem eficácia similar à metformina na modulação da fluorescência. OUF-BE (6,25 mg/mL) apresentou uma redução na fluorescência, igualando-se ao controle, indicando uma possível redução do estresse oxidativo ou dano celular e OUF-BE (12,5 mg/mL) não se diferenciou estatisticamente do grupo controle e da metformina, sugerindo que essa dose tem uma eficácia intermediária. A eficácia das diferentes formulações e doses de buriti varia, com OHE-BE mostrando um efeito similar à metformina e OUF-BE apresentando uma redução na fluorescência similar ao controle. Em se tratando de números absolutos as bioformulações contendo a fração insaponificável, nas duas concentrações, foram as que mais reduziram o estresse oxidativo, sendo mais eficaz até do que a metformina e uma delas (OUF-BE 6,25) ocorreu a reversão do estresse ao nível do grupo controle (Figura 3a).

[0095] Figura 3 - Efeito do tratamento com a bioformulação nos níveis de EROs no cérebro e no fígado do peixe-zebra.

[0096] Os tratamentos com metformina e os diferentes extratos de buriti (OHE-BE e OUF-BE) nas doses testadas não apresentam diferenças significativas em relação ao controle em termos de fluorescência. Todos os tratamentos apresentaram níveis de EROs no fígado menores do que o tratamento com metformina, mesmo não diferenciando-se estatisticamente, mas indicando potencial na redução do estresse oxidativo. A bioformulação OUF-BE (12,5 mg/mL) se destacou, por apresentar níveis de EROs menores até do que o grupo controle, demonstrando a eficácia no controle do estresse oxidativo (Figura 3b).

[0097] Para análise sensorial foi utilizado o teste afetivo, com técnica da escala hedônica de nove pontos, na qual os participantes expressaram o grau de gostar ou não gostar do produto, com termos definidos que variam de “Desgostei muitíssimo” = 1 a “Gostei muitíssimo” = 9, contendo um ponto intermediário com o termo “nem gostei;

nem desgostei” (INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020p)

[0098] Os atributos sensoriais (cor, sabor, aroma, textura e aparência) foram avaliados por meio da escala hedônica de nove pontos; escala Likert para intenção de compra do produto, variando de 1 a 5, na qual 1 significava, certamente não compraria, 5 certamente compraria e, 3, indiferente à compra. Os atributos sensoriais e intenção de compra do produto foram analisados pelo Índice de Aceitabilidade (IA) (DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 5ª ed. rev. Curitiba: PUCPRESS, 2019; MONTEIRO, C.L.B. **Técnicas de avaliação sensorial**. Curitiba, P.R.: CEPPAUFPR, 1984,101p) e por medidas de dispersão relativa ou coeficiente de variação de Pearson (CVP). O índice de aceitabilidade analisa os atributos sensoriais a partir das notas atribuídas pelos julgadores, oferecendo um percentual em relação às frequências de notas e o total de julgadores. O padrão de referência da aceitabilidade deve ser $\geq 70\%$. Será calculado pela fórmula: $IA (\%) = A \times 100/B$ (A = nota média obtida para o produto; B = nota máxima dada ao produto).

[0099] A Figura 4 apresenta os resultados do teste de aceitabilidade (Escala Hedônica) de bioformulações contendo fração insaponificável de buriti e do azeite de oliva puro. Foram avaliados seis aspectos sensoriais: impressão global, aparência, cor, aroma, sabor e consistência. Cada aspecto foi analisado considerando a aceitação, indiferença e rejeição pelos provadores. As bioformulações contendo fração insaponificável de buriti (OUF-BE 6,25 e OUF-BE 12,5) apresentaram maior aceitação em quase todos os aspectos analisados em comparação ao azeite puro. As formulações foram especialmente bem avaliadas em termos de aparência, cor e consistência. A maior concentração da fração insaponificável (OUF-BE 12,5) tende a ter uma aceitação ligeiramente superior à formulação de menor concentração (OUF-BE 6,25).

[00100] Figura 4 - Teste de Aceitabilidade (Escala Hedônica) de bioformulações contendo fração insaponificável de buriti e do azeite de oliva puro.

[00101] Quanto ao sabor adocicado para as amostras OUF-BE 6,25 e OUF-BE 12,5 aproximadamente 40% das notas foram na categoria de mais forte que o ideal e para o azeite 60% nas notas estavam na categoria de sabor ideal. Para a cor amarela, OUF-BE 6,25 teve aproximadamente 75% das notas na categoria de mais forte que o ideal, OUF-BE 12,5 80% acharam a cor mais forte que o ideal e para o azeite aproximadamente

60% avaliaram a cor como ideal (Figura 5). Os dados sensoriais indicam que, embora as bioformulações OUF-BE 6,25 e OUF-BE 12,5 apresentem boa aceitação em diversos aspectos, mas o sabor adocicado e a intensidade da cor amarela foram considerados mais fortes que o ideal por uma parte significativa dos provadores.

[00102] Figura 5 - Escala do Ideal para a cor amarela e o sabor adocicado em bioformulações e no azeite puro.

[00103] Quanto à intenção de compra (Figura 6), os resultados indicam que a amostra de azeite puro foi a mais bem avaliada, recebendo quase 80% de avaliações positivas. A bioformulação OUF-BE 6,25 teve uma aceitação moderada, com 40% de avaliações positivas, enquanto a OUF-BE 12,5 apresentou uma maior rejeição, com cerca de 50% de avaliações negativas. Esses dados sugerem que o azeite puro ainda é preferido pelos consumidores em comparação com as bioformulações contendo fração insaponificável de buriti.

[00104] Figura 6 - Intenção de Compra para as bioformulações contendo fração insaponificável e para o azeite.

FIGURAS

Figura 1



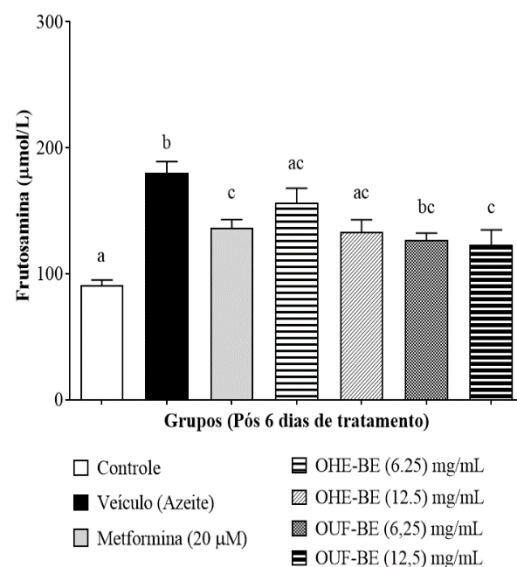
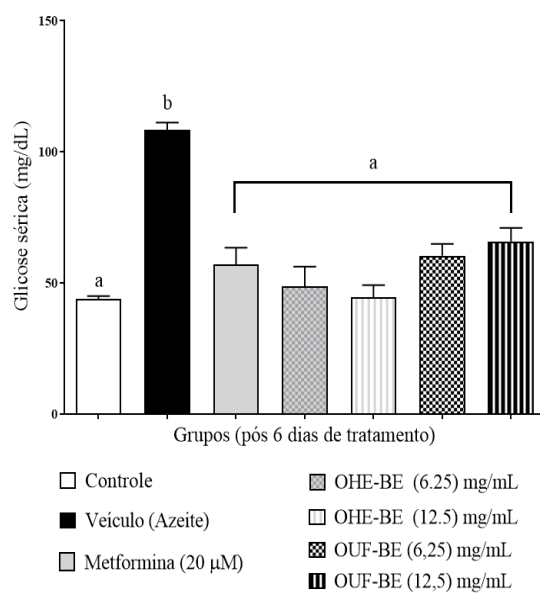
Figura 2

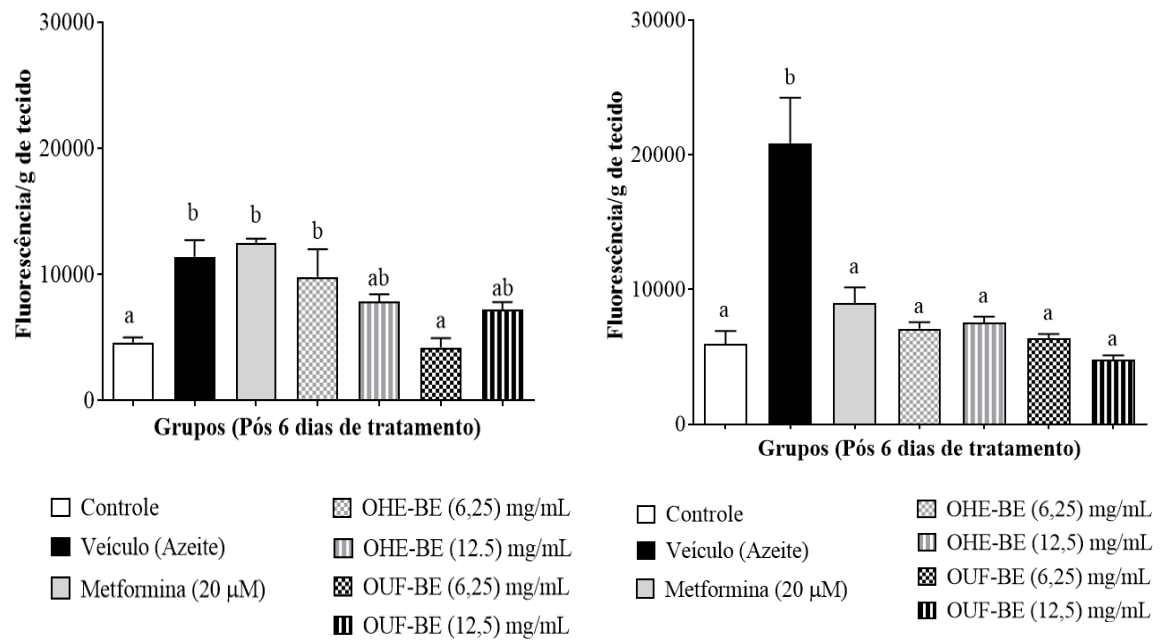
Figura 3

Figura 4

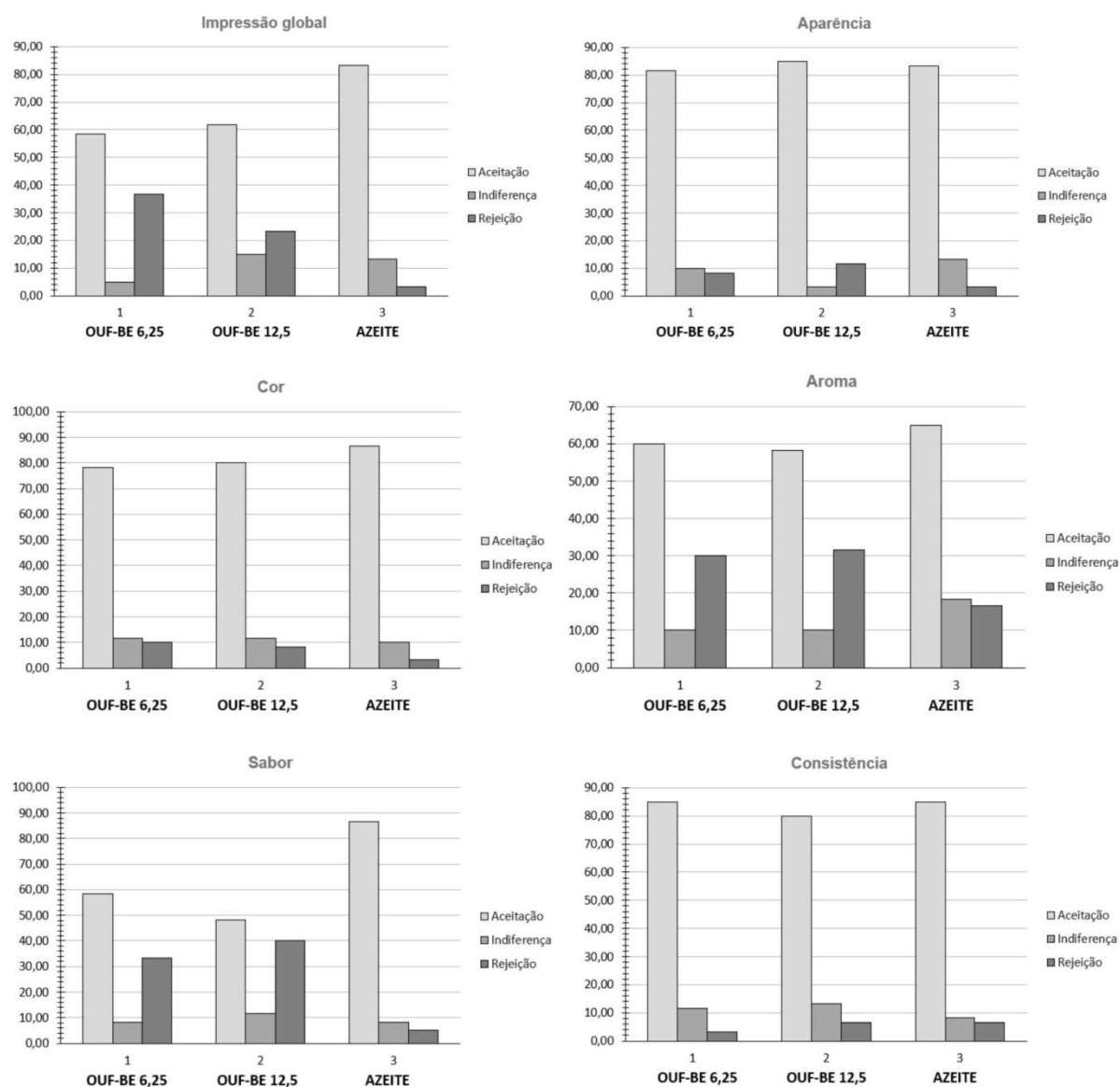


Figura 5

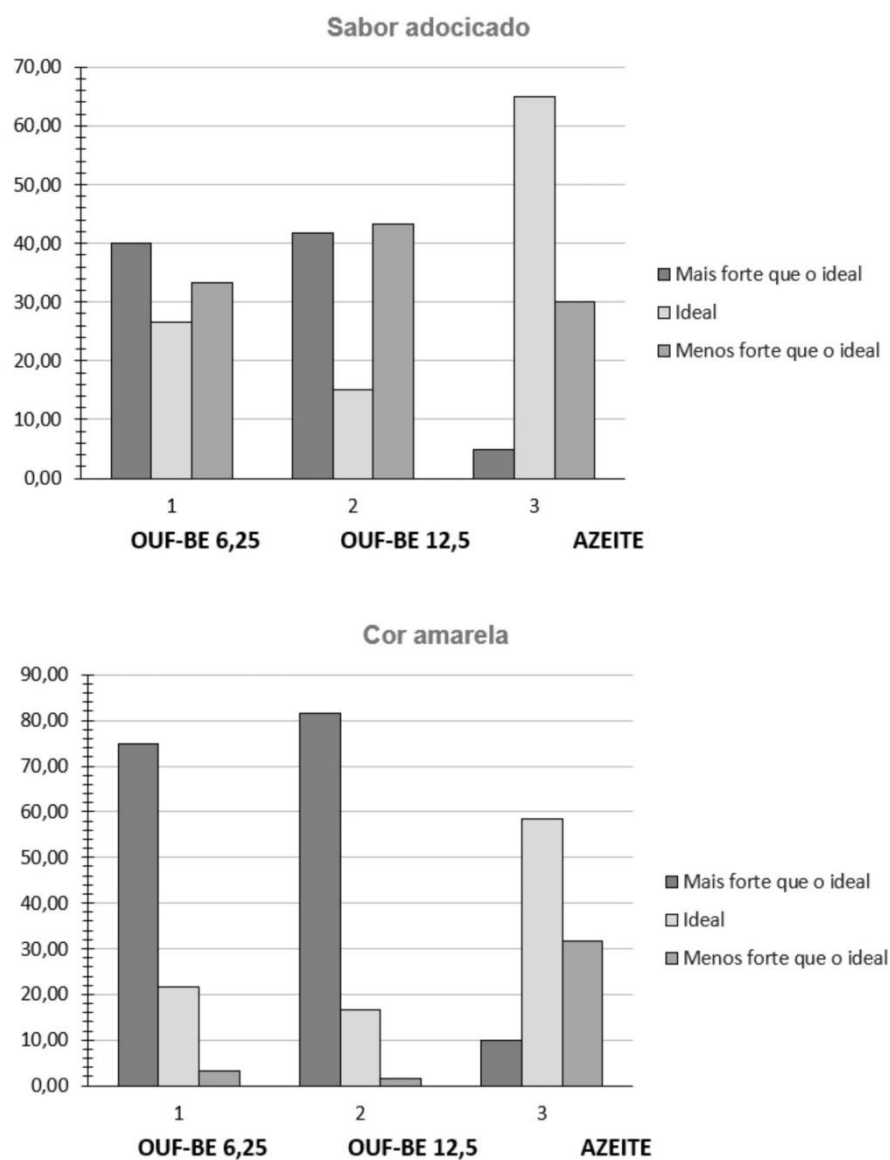
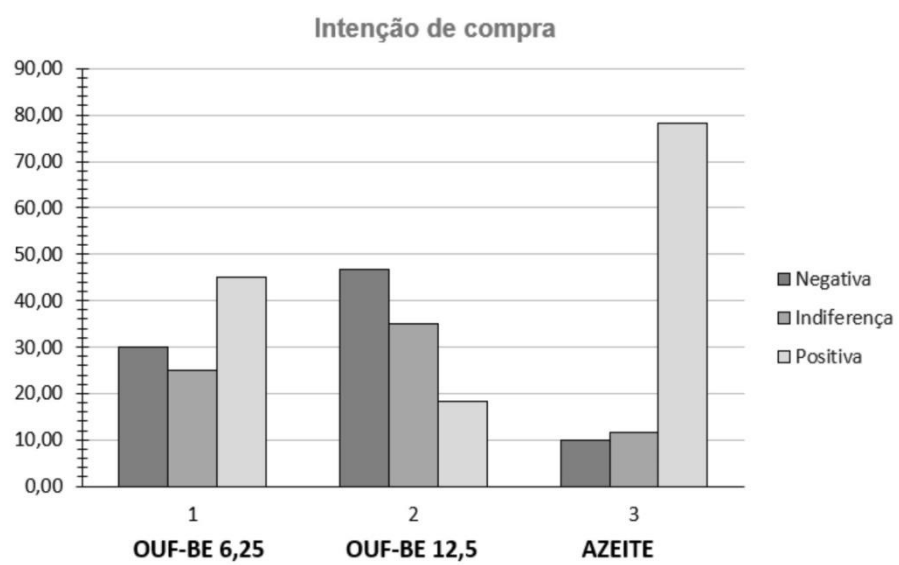


Figura 6

REIVINDICAÇÕES

BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa* L. f.

1. “BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa*”, **caracterizada por** compreender as seguintes bioformulações denominadas de OHE-BE (*olive oil with hexanic extract*) e OUF-BE (*olive oil with unsaponifiable fraction*), solubilizadas por conter: Faixas de (3 a 15 %) preferencialmente nas concentrações de 6 % e 12,5 % do extrato hexânico ou fração insaponificável extraída do epicarpo do buriti, cem por cento natural e isento de outras substâncias; e (85 a 97%) preferencialmente na concentração de 87 % de azeite de oliva extra virgem, acidez máxima entre 0,1 e 0,5%.
2. “BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa*”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** a produção das bioformulações a partir das seguintes etapas: (1) obtenção dos coprodutos do epicarpo do buriti extrato hexânico e fração insaponificável, (2) adição dos coprodutos do epicarpo ao azeite, (3) Aquecimento com agitação, (4) resfriamento do azeite e (5) Armazenamento ao abrigo da luz.
3. “BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa*”, **caracterizado por** as bioformulações terem apresentação na forma líquida, preferência, a composição, como definido acima, é administrada por via oral.
4. “BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa*”, **caracterizado por** o fato das bioformulações denominadas de OHE-BE (*olive oil with hexanic extract*) e OUF-BE (*olive oil with unsaponifiable fraction*), nas faixas (3 a 15 %) preferencialmente nas concentrações de 6% e 12,5 % terem finalidade de uso preventivo por, regular os níveis de glicose no sangue e melhorar o perfil lipídico (reduzir LDL e aumentar o HDL). Elas também reduziram significativamente os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), nos tecidos cerebral e hepático, com melhor performance em concentrações acima de 12%, superando a metformina e o grupo controle, indicando viabilidade para tratar distúrbios metabólicos, neutralizar radicais livres e contribuir para a saúde cardiometabólica.
5. “BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa*” **caracterizado por** as bioformulações denominadas de OHE-BE

(*olive oil with hexanic extract*) e OUF-BE (*olive oil with unsaponifiable fraction*) compreender, pelo menos, um composto biologicamente ativo (CBA) tais como: ésteres, terpenóides, fitosteróis, tocoferóis, álcoois, ácidos graxos e entre outros identificados no extrato hexânico e/ou fração insaponificável, como composição cosmética, composição farmacêutica, composição química, composição alimentar, suplemento alimentar e uso em nanotecnologias.

RESUMO

BIOFORMULAÇÕES CONTENDO COPRODUTOS DO EPICARPO DA *Mauritia flexuosa* L.f.

A presente invenção refere-se à obtenção de bioformulações contendo coprodutos (extrato hexânico e fração insaponificável) do epicarpo do buriti (*Mauritia flexuosa*). Essas bioformulações utilizam o azeite de oliva extravirgem, aumentando seu valor nutricional com a adição de compostos bioativos, como fitoesteróis, tocoferóis e triterpenos. Estes compostos oferecem efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, hipocolesterolêmicos e outros benefícios à saúde, ajudando na prevenção de doenças crônicas.

Os coprodutos do epicarpo foram obtidos conforme descrito no relatório inventivo de Depósito de Pedido de Patente Nº BR 10 2024 010620 2. A adição desses coprodutos ao azeite ocorreu por meio de agitação e aquecimento a 50°C em banho-maria, até total homogeneização.

As bioformulações foram testadas *in vivo* em *Danio rerio*, mostrando excelentes resultados em animais hiperglicêmicos, incluindo a redução de espécies reativas de oxigênio no tecido cerebral e hepático, com concentrações acima de 12 mg/mL sendo mais eficazes que a metformina e o grupo controle. Isso demonstra o potencial antioxidante e a viabilidade para aplicações em tratamentos de distúrbios metabólicos.

Especificamente, as bioformulações contendo coprodutos do epicarpo de *Mauritia flexuosa* têm potencial preventivo e terapêutico devido à presença de compostos biologicamente ativos que reduzem o risco de doenças crônicas relacionadas à hiperglicemia e ao estresse oxidativo. Elas melhoram os perfis lipídicos, contribuindo para a saúde cardiovascular com propriedades antioxidantes, hipolipemiantes, hipoglicemiantes, antitumorais, neurocomportamentais, fotoprotetoras e quimiopreventivas. Além disso, o uso de coprodutos do epicarpo promove a exploração de novos produtos sustentáveis, gerando benefícios científicos, mercadológicos e de segurança alimentar para as comunidades locais e regionais. Ressalta-se que esta invenção está inserida na área de biotecnologia, especificamente na área de suplementos alimentares.

CAPÍTULO 05

ARTIGO 03: Bioformulações do Epicarpo de *Mauritia flexuosa* L.f. (Buriti) melhoram parâmetros séricos, glicação de proteínas e estresse oxidativo tecidual em modelo de hiperglicemia crônica

Será submetido ao Periódico Food Bioscience

Qualis: A2

Fator de Impacto: 4,8

Cite Score: 6,4

BIOFORMULAÇÕES DO EPICARPO DE *Mauritia flexuosa* L.f. (BURITI) MELHORAM PARÂMETROS SÉRICOS, GLICAÇÃO DE PROTEÍNAS E ESTRESSE OXIDATIVO TECIDUAL EM MODELO DE HIPERGLICEMIA CRÔNICA

Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa¹, Ana Paula Apolinário da Silva², Maria Izabel Florindo Guedes³, Paulo Michel Pinheiro Ferreira⁴, Joilane Alves Pereira-Freire⁵, Stella Regina Arcanjo Medeiros⁵

¹Discente no Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - PPGAN, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil.

²Discente no Programa de Pós-Graduação Rede Nordeste em Biotecnologia - Renorbio, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

³Docente no Programa de Pós-Graduação Rede Nordeste em Biotecnologia - Renorbio, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

⁴Docente no Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas - PPGCF, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil.

⁵Docente no Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - PPGAN, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, Brasil.

Resumo

A hiperglicemia crônica é um distúrbio metabólico causado pela falha de secreção de insulina, ação prejudicada ou ambos, afetando o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. O buriti, rico em compostos bioativos, apresenta uma capacidade antioxidante significativa, contribuindo para a redução do estresse oxidativo. Esse estresse está associado ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas, incluindo a diabetes e o câncer. Este estudo avaliou parâmetros bioquímicos e toxicidade de formulações contendo extrato hexânico e fração insaponificável de *Mauritia flexuosa* em modelo de hiperglicemia crônica. Além disso, avaliou também capacidade antioxidante e citotoxicidade de extrato e fração, em células de carcinoma de cólon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos. Duas bioformulações foram desenvolvidas: uma com o extrato hexânico (OHE-BE) e outra com fração insaponificável (OUF-BE) do epicarpo do buriti. A citotoxicidade foi testada em uma concentração de 100 µg/mL e mostrou que o extrato não afetou a viabilidade das células tumorais, mas a fração insaponificável reduziu significativamente a viabilidade celular de todas as linhagens testadas. Após os testes iniciais de atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS, as concentrações de 6,25 e 12,5 mg/mL mostraram melhor desempenho, sendo selecionadas para testes posteriores. Um modelo de hiperglicemia crônica foi estabelecido em peixe *Danio rerio*, com alterações significativas em parâmetros séricos do perfil glicêmico, lipídico, glicação de proteínas e produção de EROs teciduais. Ambas as bioformulações apresentaram efeito na modulação dos parâmetros analisados, após 6 dias de tratamento. Na glicemia todas as bioformulações, em todas as concentrações, conseguiram atenuar e restabelecer a normoglicemia. Em relação à glicação de proteínas, as bioformulações mais promissoras foram as OUF-BE nas duas concentrações, pois ocorreu uma mudança que se assemelhou ao controle. No perfil lipídico o maior destaque foi a OUF-BE (12,5 mg/mL) pois promoveu uma

modulação em todos os parâmetros (Colesterol total: 125,6mg/dL, HDL: 54,05mg/dL, LDL: 32,03mg/dL e TG: 138,9mg/dL), que foi alterado pelo modelo hiperglicêmico. Quanto aos níveis de EROs, todas as bioformulações conseguiram atenuar e estabelecer a normalidade para esse parâmetro no tecido hepático, enquanto no tecido cerebral apenas a OUF-BE (6,25 mg/dL) restabeleceu a normalidade. Esses achados oferecem uma base inicial para o desenvolvimento de bioformulações com compostos biologicamente ativos, capazes de modular processos metabólicos e reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis.

Palavras-Chave: Fração insaponificável, bioformulação, hiperglicemia, *Mauritia flexuosa*

BIOFORMULATIONS OF THE EPICARP OF *Mauritia flexuosa* L.f. (BURITI) IMPROVE SERUM PARAMETERS, PROTEIN GLYCATION AND TISSUE OXIDATIVE STRESS IN A CHRONIC HYPERGLYCEMIA MODEL

Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa¹, Ana Paula Apolinário da Silva², Maria Izabel Florindo Guedes³, Paulo Michel Pinheiro Ferreira⁴, Joilane Alves Pereira-Freire⁵, Stella Regina Arcanjo Medeiros⁵

¹Student in the Graduate Program in Food and Nutrition (PPGAN), Federal University of Piauí, Ministro Petrônio Portella Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

²Student in the Northeast Biotechnology Network Graduate Program (Renorbio), State University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

³Professor in the Northeast Biotechnology Network Graduate Program (Renorbio), State University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

⁴Professor in the Graduate Program in Pharmaceutical Sciences (PPGCF), Federal University of Piauí, Ministro Petrônio Portella Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

⁵Professor in the Graduate Program in Food and Nutrition (PPGAN), Federal University of Piauí, Ministro Petrônio Portella Campus, Teresina, Piauí, Brazil.

Abstract

Chronic hyperglycemia is a metabolic disorder caused by the failure of insulin secretion, impaired action, or both, affecting the metabolism of carbohydrates, lipids, and proteins. *Buriti* (*Mauritia flexuosa*), rich in bioactive compounds, exhibits significant antioxidant capacity, contributing to the reduction of oxidative stress. This stress is associated with the development of various chronic diseases, including diabetes and cancer. This study evaluated biochemical parameters and toxicity of formulations containing hexanic extract and unsaponifiable fraction of *Mauritia flexuosa* in a chronic hyperglycemia model. Additionally, the study also assessed the antioxidant capacity and cytotoxicity of the extract and fraction in murine colon carcinoma (CT26.WT), sarcoma (S180), and fibroblast (L929) cells. Two bioformulations were developed: one with the hexanic extract (OHE-BE) and another with the unsaponifiable fraction (OUF-BE) of the buriti epicarp. Cytotoxicity was tested at a concentration of 100 µg/mL and showed that the extract did not affect the viability of tumor cells, but the unsaponifiable fraction significantly reduced cell viability in all tested cell lines. After initial antioxidant activity tests using DPPH and ABTS methods, concentrations of 6.25 and 12.5 mg/mL showed the best performance and were selected for subsequent tests. A chronic hyperglycemia model was established in *Danio rerio* fish, with significant alterations in serum parameters of glycemic profile, lipid profile, protein glycation, and tissue ROS production. Both bioformulations showed effects on modulating the analyzed parameters after 6 days of treatment. Regarding glycemia, all bioformulations, at all concentrations, were able to attenuate and restore normoglycemia. Concerning protein glycation, the most promising bioformulations were OUF-BE at both concentrations, as they induced changes similar to the control. In the lipid profile, OUF-BE (12.5 mg/mL) stood out the most, as it modulated all parameters (Total Cholesterol:

125.6 mg/dL, HDL: 54.05 mg/dL, LDL: 32.03 mg/dL, and TG: 138.9 mg/dL) that were altered by the hyperglycemic model. Regarding ROS levels, all bioformulations were able to attenuate and restore normality for this parameter in liver tissue, while in brain tissue only OUF-BE (6.25 mg/dL) restored normality. These findings provide an initial basis for the development of bioformulations with biologically active compounds capable of modulating metabolic processes and reducing the risk of chronic non-communicable diseases.

Keywords: Unsaponifiable fraction, bioformulation, hyperglycemia, *Mauritia flexuosa*

1 Introdução

O diabetes mellitus é um grave problema de saúde pública, afetando aproximadamente 537 milhões de adultos (20-79 anos), devendo atingir 783 milhões de pessoas mundialmente até o ano 2045 (IDF, 2021). O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é a forma clinicamente mais significativa de diabetes, representando 90% de todos os casos. Esta condição crônica é representada pela liberação ou ação defeituosa da insulina, resultando em níveis aumentados de glicose plasmática (Tamaraí, Bhatti e Reddy, 2019). O cenário torna-se ainda mais complexo quando se considera as múltiplas comorbidades associadas ao DM2, incluindo hipertensão arterial sistêmica (HAS), doença arterial coronariana (DAC), hepatopatias, neuropatias e retinopatias (Prasad et al., 2022; Antar et al., 2023).

A produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e o estresse oxidativo estão ligados ao desenvolvimento e progressão do diabetes tipo 2 (DM2), ocorrendo quando há um desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade do organismo de neutralizá-las com antioxidantes. Esse desequilíbrio pode causar danos celulares, inflamação e complicações a longo prazo, especialmente em indivíduos com diabetes (Bhatti et al., 2022; Haydinger et al., 2023). Antioxidantes exógenos são essenciais para mitigar esses danos associados à hiperglicemia. Mesmo após o controle da glicose, o estresse oxidativo pode causar alterações duradouras em células e tecidos, contribuindo para complicações microvasculares e dislipidemias, com implicações significativas para a saúde (Khongrum et al. 2022; Bahiru et al., 2021).

O tratamento convencional do DM2, possui como terapêutica mais empregada a metformina (ADA, 2018). Embora eficaz na redução dos níveis de glicose no sangue, apresenta vários efeitos colaterais adversos como as complicações gastrointestinais, dentre elas náuseas, diarreia e distensão abdominal. Essas limitações destacam a necessidade de novas abordagens terapêuticas que não apenas controlem os níveis de glicose, mas também gerenciem o estresse oxidativo para prevenir comorbidades e melhorar a qualidade de vida dos pacientes com DM2. Nesse contexto, as plantas têm sido utilizadas como matéria prima de produtos terapêuticos devido à diversidade molecular de metabólitos biologicamente ativos contidos nas mesmas (PAN; CHAI; KINGHORN, 2012).

O uso de produtos naturais pode desempenhar um papel significativo na gestão da hiperglicemia e na prevenção dos danos oxidativos associados. Estudos mostram que a *Mauritia flexuosa* L.f. (buriti) possui composição nutricional rica em compostos biologicamente ativos que atuam na prevenção do estresse oxidativo e de doenças crônicas assim como, substâncias antioxidantes, anti-inflamatórias e antiagregantes plaquetárias que contribuem para a saúde cardiovascular e a redução de processos inflamatórios (Amorim et al., 2021; Manhães e Sabaa-Srur 2011; Cordeiro e outros 2015).

O óleo obtido da polpa do buriti possui altos teores de ácidos graxos monoinsaturados, carotenóides e tocoferóis, sendo utilizado nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica por suas propriedades antioxidantes. Muitas atividades biológicas foram relatadas para o óleo de buriti, como antioxidante, antimicrobiana, quimiopreventiva e imunomoduladora. Devido ao seu alto teor de compostos bioativos, o óleo de buriti é considerado um ingrediente funcional com possíveis benefícios na prevenção do estresse oxidativo e de doenças crônicas (Rodrigues et al., 2024).

Portanto o objetivo desta pesquisa foi avaliar atividade antioxidante e toxicidade *in vitro*, parâmetros bioquímicos e estresse oxidativo em modelo experimental de

hiperglicemia crônica e citotoxicidade da bioformulação contendo extrato e fração insaponificável da *Mauritia flexuosa* L. f. em células tumorais.

2 Metodologia

2.1 Obtenção do extrato hexânico e da fração insaponificável

Para a elaboração do extrato hexânico (HE, *hexanic extract*), os frutos de *Mauritia flexuosa* L.f. foram selecionados e higienizados. Em seguida, foi realizada a separação do epicarpo do buriti. A matéria vegetal foi desidratada em estufa à vácuo (SL 140/30 Solab®), a 50° C, por 72 horas. Obteve-se um pó por trituração e a extração ocorreu por maceração, utilizando-se o material vegetal e o hexano na proporção de 1kg do epicarpo para 2 litros de hexano. O material ficou em contato com o solvente por um período de 48h, com ocasionais agitação. Posteriormente, o material vegetal foi filtrado e concentrado em rotoevaporador à vácuo modelo 802 Fisatom, que foi configurado para atuar na temperatura de 60°C, na velocidade de 40rpm, e pressão ajustada para 600mmHg.

A fração insaponificável (UF, *unsaponifiable fraction*) foi obtida, a partir do extrato hexânico, com uma reação de saponificação em que foi adicionado uma solução etanólica (KOH 2M) a um alíquota do extrato e aquecido em banho de areia (60°C) por 1 hora, com agitação. A essa mistura reacional (sabão + insaponificáveis) realizou-se a reação de metilação para extrair a fração insaponificável e depois foi separada (da fração saponificável) e concentrada em rotoevaporador.

2.2 Citotoxicidade *in vitro* do extrato hexânico e da fração insaponificável em células tumorais e normais.

As células utilizadas foram as linhagens L929 (fibroblastos de camundongo, ATCC® CCL-1™) e CT26.WT (carcinoma de cólon murino, ATCC CRL-2638™) que foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivada em meio DMEM e RPMI, respectivamente, e suplementadas com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos (penicilina/estreptomicina, Sigma®) e 5 mg/L de anfotericina (Cristalia®), mantidas em estufa (Shel Lab®) a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂. A linhagem proveniente de cultura primária, sarcoma murino (S180), foi obtida a partir da coleta realizada na cavidade intraperitoneal do camundongo (*Mus musculus*) com 10 dias de tumor (CEUA #0555/2019). As amostras foram diluídas em DMSO P.A. (Dinâmica®) para preparo da solução estoque de 10 mg/mL. Em seguida, foram testadas em concentração única de 100 µg/mL. O controle negativo consistiu no veículo utilizado no preparo das amostras (DMSO a 1%).

As células (L929 e CT26.WT) foram plaqueadas na concentração de 5×10^3 cél/poço/100 µL. Após 24h, as células foram submetidas ao tratamento e foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, adicionou-se 20 mL da solução de MTT (sal de tetrazolium) solubilizado em PBS estéril, e as placas foram incubadas por 4h. A absorbância foi lida após a dissolução do precipitado com 100 mL de DMSO puro em espectrofotômetro (GloMax®) de microplaca a 560 nm.

A linhagem de sarcoma foi plaqueada na concentração de 5×10^5 céls/mL e tratadas no mesmo dia com as amostras. A análise de citotoxicidade neste protocolo foi realizada por meio do ensaio *Alamar Blue*, após 72h de tratamento, por meio da aplicação da resazurina. A leitura do teste procedeu por análise da intensidade de

fluorescência utilizando o leitor de placas (GloMax®), com excitação em 520 nm e emissão em 580-640 nm.

Os experimentos foram analisados segundo a média $\pm$ erro padrão da média (EPM) da porcentagem de redução e/ou aumento do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism*. O pós-teste estatístico consistiu no teste T de student avaliação de significância ($p < 0,05$).

2.3 Potencial antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS no extrato hexânico e na fração insaponificável

Para avaliação da atividade antioxidante e determinação da concentração capaz de inibir 50% dos radicais livres (CI50), amostras de HE e de UF foram testadas em uma ampla faixa de concentrações (1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 mg/mL). O método de eliminação de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) foi realizado de acordo com o protocolo de Blois (1958), resumidamente as soluções das amostras amostra, foram adicionadas 3,9 mL de DPPH ($6,5 \times 1050$), e a absorbância foi medida em um comprimento de onda de 515 nm. O ensaio ABTS foi realizado de acordo com Miller et al. (1993), O radical ABTS⁺ foi preparado reagindo 5 mL da solução de ABTS com 88 μ L de uma solução de persulfato de potássio, protegida da luz, à temperatura ambiente por 16 horas. Para obter uma absorbância de 0,70 nm $\pm$ 0,05 nm a 734 nm, a solução do radical foi então diluída em álcool etílico. As amostras e os padrões diluídos foram incubados com a solução de ABTS⁺ por 10 minutos a 37°C em banho-maria. Ao final dos 10 minutos, a diminuição da absorbância a 734 nm foi monitorada. Os testes antioxidantes foram realizados em triplicata, com ácido gálico servindo como antioxidante padrão para ambos os ensaios. A porcentagem de inibição foi calculada pela fórmula: Atividade antioxidante (%) = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100$; onde A_0 = absorbância do controle e A_1 = absorbância da amostra. Com base nos resultados obtidos, as duas concentrações mais promissoras (6,25 mg/mL e 12,5 mg/mL) foram selecionadas para os testes de atividade biológica no modelo de hiperglicemia.

2.4 Delineamento das bioformulações do epicarpo do buriti

Após a produção do HE e UF e teste de atividade antioxidante *in vitro* foram desenvolvidas duas bioformulações: bioformulação 1) HE + azeite de oliva extravirgem comercial, denominada OHE-BE (olive oil with unsaponifiable fraction buriti epicarp) e bioformulação 2) UF + azeite de oliva extravirgem comercial, denominada OUF-BE (olive oil with hexane extract buriti epicarp). Para a mistura das amostras ao azeite, as bioformulações foram agitadas e aquecidas em banho-maria à 50°C, até a completa homogeneização (cerca de 10 minutos). Para obtenção de uma mistura de característica homogênea, sem formação de grumos ou partículas suspensas, a diluição da amostra foi limitada à concentração de 50 mg de HE ou UF para cada 1 mL de azeite.

2.5 Ensaios *in vivo*

2.5.1 Aspectos éticos

Todos os testes foram realizados de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará sob o nº de processo 200621/2020.

2.5.2 Animais

Peixes-zebra adultos, com idade de 60 a 90 dias e $0,3 \pm 0,03$ g, ambos os sexos, foram adquiridos do fornecedor Agroquímica LTDA-Fortaleza, Ceará. Os animais foram recebidos e acomodados por 48 horas e depois aclimatados por mais 7 dias. Durante esse período, os animais foram distribuídos em grupos, respeitando a proporção de até 5 animais por 1 L de água, em uma temperatura de até 25°C e pH 7,0, com ritmo circadiano de 14 horas de claro e 10 horas de escuro. Os animais foram alimentados, duas vezes ao dia, com ração (Alcon Gold Spirulina Flakes®) e *Artemia* salina congelada, até 24 horas antes dos experimentos. A troca da água dos aquários ocorreu a cada 48 horas para eliminar possíveis contaminantes. Durante a aclimação foram registrados o percentual de mortalidade, de acordo com (OECD, 2019).

2.5.3 Teste de toxicidade aguda por 96 horas

Para o teste de toxicidade aguda e estabelecimento da CL_{50} , os animais foram randomizados em grupos ($n = 12$) e receberam 20 μ L das bioformulações OHE-BE e OUF-BE nas concentrações de 1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 mg/mL, diariamente, utilizando uma micropipeta inserida suavemente na boca dos animais. A mortalidade e anormalidades visíveis relacionadas à aparência e ao comportamento foram registrados a cada 24 horas, após o início dos testes, durante o período de 96 horas, conforme o guia de teste de toxicidade aguda (OECD, 2019).

2.5.4 Indução e avaliação da hiperglicemia crônica

Para a indução da hiperglicemia crônica, os animais ficaram imersos continuamente em solução de D-glicose (111 mM/L), por 14 dias, conforme Capiotti et al., (2014). Ao final da exposição foi verificado se o método foi bem-sucedido, comparando a glicemia entre ($n=6$) animais não expostos e ($n=6$) animais expostos à solução de glicose.

Uma vez estabelecida a hiperglicemia crônica, os animais foram randomizados em grupos experimentais ($n=6$): grupo controle (animais saudáveis que não foram submetidos a nenhum teste); grupo veículo (animais que receberam apenas azeite); grupo metformina (animais que receberam cloridrato de metformina; 10 μ M); grupo OHE-BE 6,25 (animais que receberam a bioformulação contendo extrato hexânico na concentração de 6,25 mg/mL); grupo OHE-BE 12,5 (animais que receberam a bioformulação com extrato hexânico na concentração de 12,5 mg/mL); OUF-BE 6,25 (animais que receberam a bioformulação com fração insaponificável na concentração de 6,25 mg/mL); grupo OUF-BE (animais que receberam a bioformulação com fração insaponificável na concentração de 12,5 mg/mL).

Os animais foram tratados, via oral (20 μ L), diariamente (1x ao dia), por 6 dias, sendo mantidos em água desclorada, que era trocada diariamente.

2.5.5 Coleta e Preparação de Sangue

Para a coleta de sangue, os animais foram submetidos a um banho de gelo (2 a 4°C) até a perda dos movimentos operculares (Leary, 2020). Em seguida, foi feita uma incisão transversal total no nível da última nadadeira do peixe, expondo os vasos sanguíneos dorsais. A amostra de sangue foi coletada e colocada em um microtubo de

centrífuga contendo uma solução anticoagulante de EDTA, citrato e salina, e o tubo foi centrifugado (Silva et al., 2024).

2.5.6 Determinação dos parâmetros bioquímicos séricos

Amostras de sangue foram usadas para estimar os níveis de glicemia, colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos (TG). A quantificação dos parâmetros supracitados ocorreu usando kits comerciais (BIOCLIN®) e o ensaio foi determinado utilizando o dispositivo Biochrom Anthos Multiread 400. Os níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) foram calculados pela equação conforme Friedewald et al., (1972): $VLDL = TG/5$; $LDL = CT - (HDL + VLDL)$.

2.5.7 Determinação dos níveis de proteína glicada (frutosamina)

Neste estudo foi utilizado o ensaio de quantificação de frutosamina (proteínas glicadas) para documentar a presença de produtos de glicação não enzimática de olhos de peixe-zebra de todos os grupos, conforme (Capiotti et al., 2014). Em resumo, os olhos do peixe-zebra foram retirados e lavados em NaCl (150 mM), colocados em 500 µL de solução salina e completamente homogeneizados. Posteriormente foram centrifugados a 10000 rcf à 4° C, por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e os níveis de frutosamina foram determinados usando um kit comercial (BIOCLIN®). A determinação da absorbância foi realizada no dispositivo Biochrom Anthos Multiread.

2.5.8 Níveis de espécies reativas de oxigênio nos tecidos cerebral e hepático

Para verificar se os animais hiperglicêmicos também desenvolveram estresse oxidativo, foi utilizada a diclorofluoresceína (DCHF-DA), um marcador comumente utilizado para identificar espécies reativas de oxigênio (EROs) (Pasciu et al., 2023). Os tecidos, cérebro e fígado, em triplicata, foram pesados e posteriormente macerados em Tris-HCl-EDTA, seguido de centrifugação a 10.000g por 10 min. Em seguida, 50 µL do sobrenadante foram coletados e misturados com 5 µL de DCHF-DA. A emissão de intensidade de fluorescência foi registrada em 520 nm (com excitação de 480 nm) após 1 hora da adição de DCHF-DA (Eruslanov & Kusmartsev, 2010). Os resultados foram expressos em intensidade de fluorescência por grama de tecido.

2.6 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão para testes *in vitro* ou média ± erro padrão da média para cada grupo de animais. Após confirmação da distribuição normal e homogeneidade dos dados, as diferenças entre os grupos foram submetidas à análise de variância (ANOVA unidirecional), seguida do teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com o *software GraphPad Prism 6.0*. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

3 Resultados e Discussão

3.1 Potencial citotóxico do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti

Em ambas as linhagens tumorigênicas testadas, o extrato hexânico, aplicado na concentração única de 100 µg/mL durante o *screening* de citotoxicidade, não apresentou interferência na viabilidade celular (Figura 1). Isso sugere que, nessa concentração específica, o extrato não possui um efeito citotóxico significativo sobre as células tumorais. Este resultado pode indicar que o extrato hexânico não contém compostos que, na concentração testada, sejam suficientemente ativos para induzir a morte celular ou inibir o crescimento de células cancerígenas.

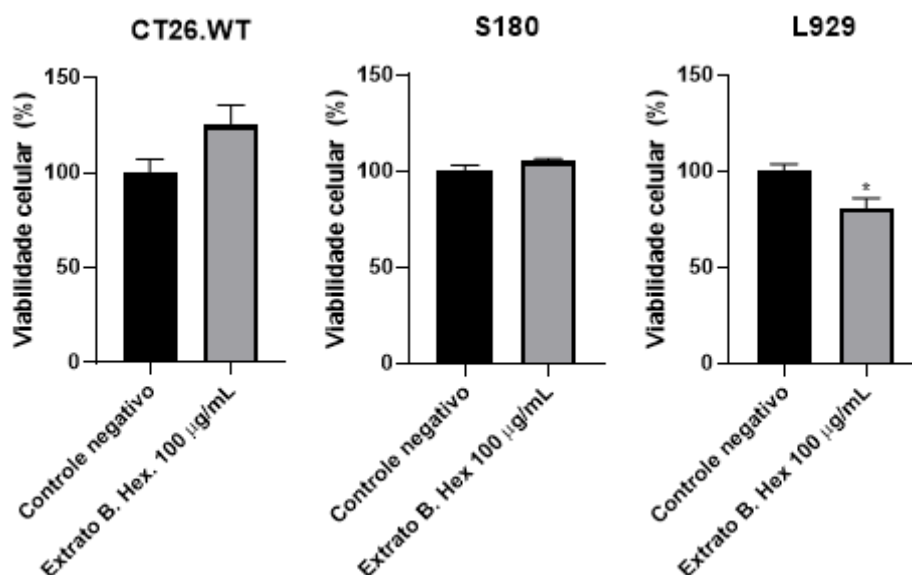


Figura 1 - Viabilidade de células de carcinoma de cólon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos tratados por 72 h com Extrato Hexânico. Média $\pm$ E.P.M. *Test T de Student ($p < 0,05$).

Por outro lado, quando testado na linhagem celular normal L929, o extrato hexânico mostrou uma redução mínima na viabilidade celular, com significância estatística ($p < 0,05$) conforme Tabela 1. Portanto, os resultados mostram que o extrato hexânico do epicarpo de buriti pode apresentar efeito citotóxico brando em células normais na concentração testada. Por isso é importante separar os fitoquímicos bioativos desejados para atingir as atividades farmacológicas máximas contra uma doença específica.

Tabela 1: Percentuais de inibição do crescimento celular do extrato hexânico.

Amostra	% Inibição do crescimento*		
	CT26.WT	S180	L929
Veículo	0,0 $\pm$ 7,13	0,0 $\pm$ 3,09	0,0 $\pm$ 3,72
Extrato Hexânico	0,0 $\pm$ 10,58	0,0 $\pm$ 1,25	19,19 $\pm$ 5,08

Percentual de inibição do crescimento celular do extrato hexânico avaliado em concentração única em linhagens de carcinoma de cólon, sarcoma e fibroblasto murinos após 72 h de exposição.

*Percentual de inibição do crescimento celular expressos pela média $\pm$ E.P.M.

Por sua vez, a fração insaponificável do buriti, avaliada na concentração única de 100 µg/mL, interferiu significativamente na viabilidade celular de todas as linhagens testadas ($p < 0,05$), como demonstrado na Figura 2 e Tabela 2. Corroborando com o presente resultado, os estudos de Kanunfre et al. (2017) avaliaram a citotoxicidade do extrato bruto da casca de *E. umbellata* e suas frações usando ensaio *in vitro*. O ensaio de metabolismo celular avaliado pela redução de MTT expressou uma diminuição na viabilidade celular com todas as amostras testadas e as frações se mostraram mais ativas do que o extrato bruto.

Portanto, os dados nos permitem inferir que a fração pode ser considerada uma fonte potencial de agente quimioterápico. Produtos naturais são geralmente considerados inofensivos; no entanto, essas substâncias precisam ser consumidas com cautela. Ensaios biológicos com modelos vegetais são uma alternativa adequada para estudos prospectivos para avaliar a toxicidade iniciada por produtos naturais, assim, pesquisas adicionais devem ser realizadas com a presente fração e extrato hexânico do epicarpo de buriti, para determinar o mecanismo exato da atividade biológica e também compreender os diversos fatores que interferem na atividade citotóxica.

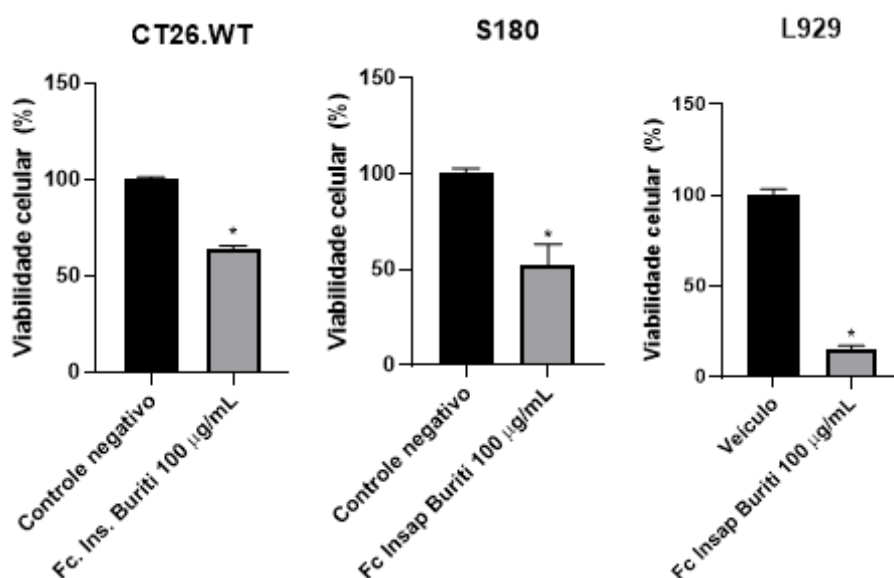


Figura 2. Viabilidade de células de carcinoma de cólon (CT26.WT), sarcoma (S180) e fibroblastos (L929) murinos tratados por 72 h com a fração insaponificável do buriti. Média $\pm$ E.P.M.. *Test T de student ($p < 0,05$).

A fração insaponificável reduziu a proliferação celular de linhagens tumorais e da linhagem normal, apresentando potencial citotóxico nas condições testadas. Sugere-se que ao concentrar a quantidade de fitoesteróis na fração insaponificável, e estes permanecerem como os compostos majoritários, a maior atividade biológica exercida seja a deles. Wang et al. (2022) demonstrou que o estigmasterol tem grande potencial de aplicação quimiopreventiva, propondo que o mesmo pode ser usado como adjuvante para o tratamento do câncer endometrial a posteriori.

Tabela 2: Percentuais de inibição do crescimento celular da fração insaponificável.

Amostra	% Inibição do crescimento*		
	CT26.WT	S180	L929
Veículo	0,0 ± 1,13	0,0 ± 2,88	0,0 ± 3,32
Fração Insaponificável	35,88 ± 1,34	58,23 ± 6,08	84,53 ± 1,53

Percentual de inibição do crescimento celular da fração insaponificável do buriti avaliado em concentração única em linhagens de carcinoma de cólon, sarcoma e fibroblasto murinos após 72 h de exposição. *Percentual de inibição do crescimento celular expressos pela média ± E.P.M.

Evidências pré-clínicas nas últimas décadas mostraram que o β -Sitosterol (SIT) exibe múltiplas atividades quimiopreventivas contra vários tipos de câncer, como leucemia, mieloma múltiplo, melanoma e fibrossarcoma. Portanto, o mecanismo de ação é devido ao aumento da apoptose, indução da parada do ciclo celular, regulação do estresse oxidativo, melhora do perfil metabólico, redução de metástase, modulação da imunidade, inflamação e diminuição da resistência a medicamentos (Wang et al., 2023).

Segundo Pereira-Freire, et al. (2018) os frutos de buriti protegem as células sanguíneas de camundongos contra a lise induzida por radicais peroxil, demonstrando as potencialidades quimiopreventivas dos frutos de *M. flexuosa* e seus coprodutos ricos em compostos bioativos e substâncias fenólicas antes e depois da investigação de bioacessibilidade *in vitro*. Em outro estudo foi possível verificar que o extrato aquoso da polpa de buriti inibiu a proliferação celular de linhagens do carcinoma de cólon HT-29, apresentando IC₅₀ de (262,6 ± 2,2) $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tauchen et al., 2016).

Com base nas evidências pré-clínicas discutidas, tanto o β -Sitosterol (SIT) quanto os frutos de buriti (*Mauritia flexuosa*) mostram promissora atividade quimiopreventiva. O β -Sitosterol exibe múltiplos mecanismos de ação antitumoral, o que o torna um candidato potencial para o desenvolvimento de terapias contra diversos tipos de câncer e leucemias. Por outro lado, o buriti, com suas propriedades antioxidantes e compostos bioativos, demonstrou proteção das células sanguíneas contra danos oxidativos e inibição da proliferação de células tumorais, reforçando seu potencial como agente quimiopreventivo. Esses achados destacam a importância de explorar e aprofundar o conhecimento sobre esses compostos para desenvolver novas estratégias de prevenção e tratamento de câncer.

3.2 Potencial antioxidante do extrato hexânico e da fração insaponificável do epicarpo do buriti.

Nos resultados das análises de potencial antioxidante o extrato hexânico (HE) mostrou-se mais eficaz na inibição dos radicais DPPH em menores concentrações (3,125 mg/mL e 6,25 mg/mL) quando comparado a fração insaponificável (UF). Isso pode indicar que componentes presentes no extrato hexânico são ativos em baixas concentrações, mas podem saturar ou ser menos eficazes em concentrações mais altas. UF foi mais eficaz em concentrações mais altas (12,5 mg/mL, 25 mg/mL e 50 mg/mL) como pode ser visto na Tabela 3. Isso sugere que componentes presentes em UF são mais eficazes ou necessitam de concentrações mais altas para alcançar uma inibição significativa dos radicais. Isso mostra que a eficácia antioxidante de extratos e frações pode variar significativamente com a concentração. No método ABTS ocorreu o

inverso, o HE foi mais eficaz em maiores concentrações (25 e 50 mg/mL) enquanto a fração foi melhor em baixas concentrações (1,56 e 3,12 mg/mL).

Componentes ativos podem ter diferentes níveis de eficácia dependendo de sua concentração, interação com outros componentes e saturação dos radicais livres (Malcangi et al., 2023). Mesmo com essa variação em relação ao potencial de sequestro de radicais livres nos dois métodos testados e nas diferentes concentrações, a IC₅₀ das amostras não apresentou diferença significativa entre elas, 8,1 e 7,92 mg/mL para EH e UF no método DPPH, respectivamente. No método ABTS, a IC₅₀ apresentada pelo EH e UF foi de 10,15 e 7,92, respectivamente, demonstrando que a fração tem maior atividade antioxidante.

O buriti (*Mauritia flexuosa*) destaca-se por sua composição rica em compostos bioativos, como fitosteróis, tocoferóis e carotenóides, que desempenham um papel essencial na neutralização de radicais livres e proteção contra danos oxidativos, classificando-o como um alimento funcional (Cardoso et al., 2020). Os fitoesteróis presentes no buriti possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, modulando processos inflamatórios e prevenindo doenças associadas ao estresse oxidativo e inflamação crônica. A combinação de tocoferóis e carotenóides amplifica o efeito antioxidante, potencializando a proteção celular. Assim, o buriti se apresenta como um aliado valioso na promoção da saúde e prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (Souza et al., 2020; Marcelino et al., 2022).

Tabela 3: Percentual de inibição de radicais **DPPH** e **ABTS** no extrato hexânico e na fração insaponificável.

Concentrações (mg/mL)	% Inibição			
	DPPH		ABTS	
	EH	FI	EH	FI
50	83,6	96,8	91,3	81,3
25	64,4	94,2	75,3	67,8
12,5	59,1	78,2	50,8	55,9
6,25	45,2	32,6	42,2	40,8
3,125	39,3	20,4	19,5	33,7
1,5625	7,4	7,35	5,2	22,3
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
IC ₅₀	8,1	7,92	10,15	7,92
Ácido gálico	0,009		0,021	

EH: Extrato Hexânico; FI: Fração Insaponificável; IC₅₀ : Concentração inibitória capaz de sequestrar 50% dos compostos oxidantes no meio reacional.

Embora não haja diferença estatística significativa entre as amostras nas análises específicas, a variação na performance indica que diferentes frações podem ter utilidades diferentes dependendo da concentração e do tipo de radical alvo. Estes achados são importantes para a aplicação prática desses extratos em formulações antioxidantes, onde a concentração e o tipo de radical alvo são considerados para maximizar a eficácia antioxidante.

3.3 Toxicidade aguda do extrato hexânico e da fração insaponificável em modelo *Danio rerio*

Durante o período de aclimação (7 dias), a mortalidade registrada foi inferior a 5% e, portanto, o lote foi aceito para realização do teste de toxicidade. Nenhuma concentração de OHE-BE (1,56; 3,12; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/mL) apresentou toxicidade. Em relação a OUF-BE, na concentração de 50 mg/mL, duas mortes foram registradas, sendo uma morte registrada após 48 horas do início do teste e outra morte ocorrendo ao final de 72 horas, resultando em um percentual de mortalidade de 16,6%. Esse método permite a determinação de um CL_{50} apenas quando pelo menos duas doses resultam em mortalidade superior a 0% e inferior a 100%, conforme preconiza a OECD, 2019.

3.4 Efeito da indução de hiperglicemia crônica na glicemia e na glicação de proteínas (Frutosamina) nos olhos do peixe-zebra.

A imersão do peixe-zebra em água contendo 111 mM de glicose induziu à hiperglicemia e à um nível maior de glicação de proteínas (frutosamina), com elevações significativas ($p < 0,005$) nos níveis de glicose no sangue e frutosamina nos olhos dos animais. Os resultados mostraram que a hiperglicemia induzida promoveu uma alteração média da glicemia 43,79 mg/dL para 162,86 mg/dL e da frutosamina (de 91,04 μ mol/L para 285,28 μ mol/L), compreendendo um percentual de aumento em torno de 300%, como pode ser observado na Figura 3 A e B.

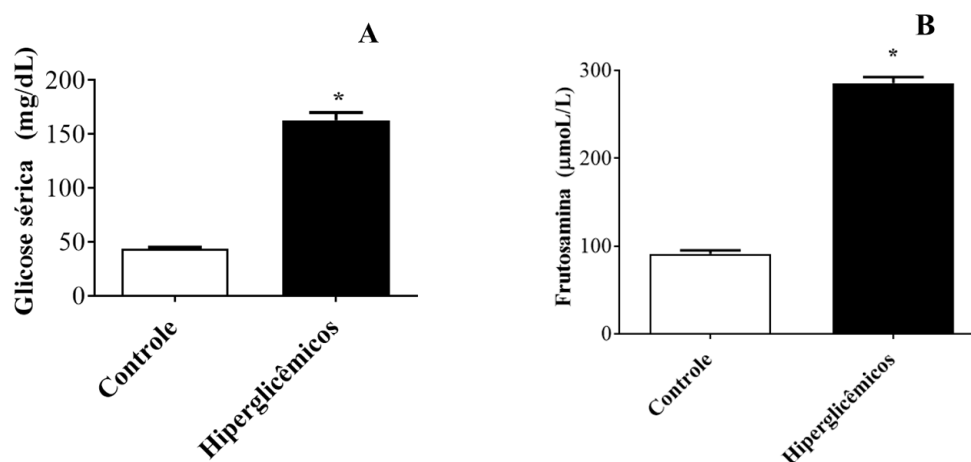


Figura 3. Efeito da indução da hiperglicemia, na glicose sérica e na frutosamina.

Estudos têm demonstrado que pacientes com diabetes mellitus do tipo 2 apresentam maior glicação de proteínas, sendo esse um dos métodos para monitorar o controle glicêmico em humanos (Bomholt et al., 2022). Com base nisso, neste estudo avaliou-se, além da glicemia, a glicação de proteínas (frutosamina) nos olhos do peixe. Essas alterações somadas ao estado de estresse oxidativo, dislipidemia e outras perturbações metabólicas podem favorecer o desenvolvimento de complicações associadas à hiperglicemia persistente, tais como retinopatias, hepatopatias, neuropatias e doenças cardiovasculares (Testa, 2017).

3.5 Efeito do Tratamento com bioformulação na hiperglicemia e na glicação de proteínas (frutosamina) nos olhos do peixe-zebra

Os resultados do estudo mostraram que com as bioformulações (OHE-BE e OUF-BE), administrados via oral, por seis dias, em peixe-zebra hiperglicêmico, reduziram significativamente ($p < 0,005$) os níveis de glicemia e de frutosamina, como pode ser observado na Figura 4.

Ao final do tratamento, ambas as concentrações de OHE-BE e OUF-BE foram capazes de estabelecer a normoglicemia dos animais ($43,79 \pm 3,23$), de maneira semelhante ao grupo tratado com metformina ($57,1 \pm 17,8$ mg/dL) (Figura 4A).

Em relação a frutosamina também houve redução da glicação de proteínas nos grupos tratados com OHE-BE na concentração de 12,5 mg/mL ($133,5 \pm 21,2$ μg/dL) sem, contudo, restabelecer o estado normal em relação a esse parâmetro. Nesse sentido, OUF-BE foi mais eficaz em atenuar os níveis de frutosamina dos animais, restabelecendo os níveis normais de frutosamina ($91,0 \pm 10,7$ μg/dL). A metformina também reduziu significamente ($p < 0,005$) os níveis de proteína glicada ($136,7 \pm 15,5$ μg/dL), contudo não foi capaz de restabelecer os níveis normais deste parâmetro (Figura 4B).

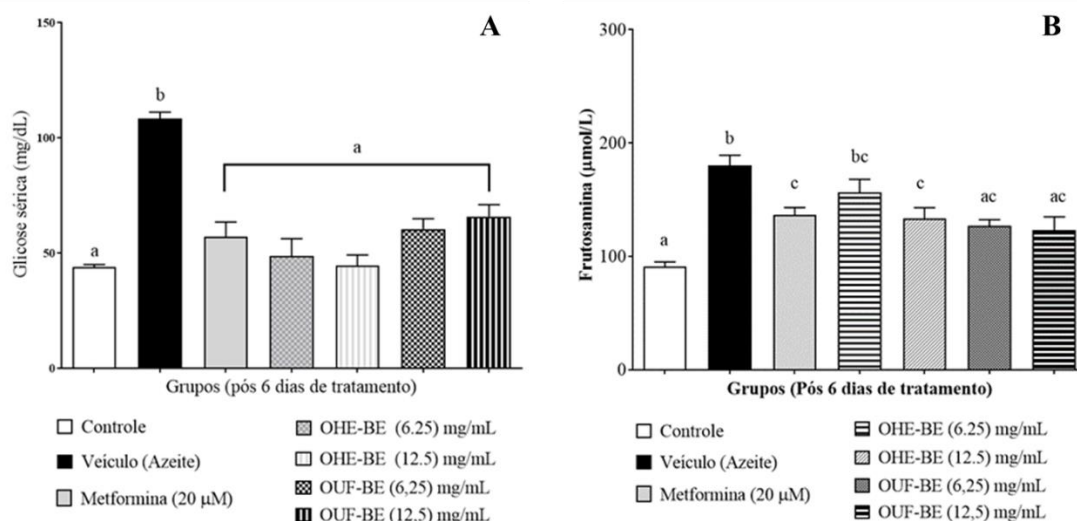


Figura 4. Efeito do tratamento com bioformulação na glicemia e na frutosamina (glicação de proteínas) do peixe-zebra.

O tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) envolve uma combinação de mudanças no estilo de vida, hipoglicemiantes orais e, em alguns casos, insulina. Os medicamentos que podem ser utilizados no controle, são aqueles que por algum mecanismo estimulem a produção de insulina, como a metformina, sulfonilureias, tiazolidinedionas, dentre outros (Filho et al., 2023). Para realizar o tratamento dos peixes hiperglicêmicos, a substância hipoglicêmica utilizada neste estudo como controle positivo, foi a droga hipoglicêmica metformina, que é frequentemente recomendada como um dos principais medicamentos para pacientes com DM2.

As bioformulações foram desenvolvidas com o objetivo de ser um alimento que possa apresentar em sua composição compostos biologicamente ativos capazes de atuarem como moduladores dos processos metabólicos, diminuindo o risco de doenças

crônicas não transmissíveis. As bioformulações utilizadas neste estudo, têm uma composição rica em fitoesteróis, tocoferóis e terpenóides e essa combinação (sinergia) de diversos compostos bioativos pode maximizar seus benefícios terapêuticos e ter aplicações importantes na saúde humana, especialmente na prevenção e tratamento de doenças metabólicas e inflamatórias, por meio da redução do colesterol, da proteção contra danos oxidativos e modulação da resposta inflamatória (Kumar et al., 2023). A sinergia e ação multi alvo dessas moléculas pode justificar o efeito mais eficaz de OUF-BE em atenuar a glicação de proteínas, quando comparada a metformina.

Componentes vegetais como o fitoesterol, em particular, têm atraído muita atenção nas pesquisas recentemente, devido a uma ligação entre o seu consumo e uma incidência modesta de problemas globais, como o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), câncer e doenças cardiovasculares. Evidências revelam que os fitoesteróis e as dietas enriquecidas com eles podem controlar a glicose e metabolismo lipídico, bem como resistência à insulina (Prasad et al., 2022).

O β -sitosterol (SIT), o componente bioativo mais abundante do óleo vegetal e de outras plantas, é um medicamento antidiabético altamente potente (Jayaraman et al., 2021), essa constatação ocorreu no estudo de Ponnulakshmi et al. (2019) que concluiu que o β -sitosterol melhora o controle glicêmico através da ativação de receptores de insulina (IR) e GLUT4 no tecido adiposo de ratos diabéticos tipo 2 alimentados com dieta com alto teor de gordura e induzidos por sacarose. A análise do *in silico* desse estudo também coincidiu com os resultados obtidos por meio de estudo *in vivo*. Portanto, ficou claro que o β -sitosterol pode atuar como um potente agente antidiabético.

O estudo de Jayaraman et al. (2021), relata pela primeira vez que o β -sitosterol (SIT) inibe a resistência à insulina induzida pela obesidade ao melhorar eventos inflamatórios em tecidos adiposos de ratos diabéticos tipo 2, alimentados com dieta rica em gorduras e sacarose, através da regulação negativa da sinalização IKK β /NF- κ B (da subunidade beta da quinase kappa-B do fator nuclear/ fator nuclear kappa B) e JNK(quinase-1 c-Jun-N-terminal). O autor afirma que as propriedades antidiabéticas do β -sitosterol são altamente equivalentes às exercidas pelos medicamentos antidiabéticos convencionais, incluindo a metformina.

Segundo Babu et al. (2020) o β -sitosterol atenua a resistência à insulina através da ativação de moléculas sinalizadoras de insulina (IRS-1), e melhora o controle glicêmico no tecido adiposo de ratos diabéticos tipo 2. O potencial terapêutico do composto foi verificado pela observação do padrão de expressão das moléculas sinalizadoras da insulina e a partir de tais descobertas a suplementação com β -sitosterol pode fornecer uma abordagem construtiva no tratamento do diabetes tipo 2.

Em outro estudo (Krishnan, et al., 2021) realizado com ratos diabéticos, alimentados com uma dieta rica em gordura e induzidos por sacarose, apresentaram reduções na tolerância à glicose e insulina, bem como nos níveis das moléculas de sinalização da insulina (receptor de insulina (IR e GLUT4) e glicogênio. Os níveis de insulina sérica, perfil lipídico, e os níveis de marcadores de estresse oxidativo como peroxidação lipídica (LPO), H₂O₂, e OH* foram significativamente mais altos nos ratos diabéticos. A terapia com β -sitosterol demonstrou reduzir os níveis de glicose no sangue e melhorar os níveis de insulina sérica, normalizar os níveis de lipídios no sangue, reduzir os níveis de LPO, H₂O₂, e OH*, indicando menor estresse oxidativo e aumentou os níveis de IR e GLUT4, essenciais para a captação de glicose e regulação da glicemia. Com tudo isso o estudo sugeriu que β -sitosterol pode ser uma terapia eficaz para melhorar o controle glicêmico e reduzir complicações associadas ao diabetes tipo 2.

Segundo Sundaram, Muthu e Prabhakaran (2024) ratos diabéticos tratados com β -sitosterol e o lupeol reduziram significativamente a glicemia e os níveis de modelo de avaliação homeostático para resistência à insulina (HOMA-IR). Isto pode ser devido ao tratamento reverter a resistência à insulina ou estimular as células β restantes das ilhotas de Langerhans para liberar mais insulina do pâncreas através do seu potencial antioxidante.

De acordo com Wang et al., (2017) que investigou a atividade antidiabética do estigmasterol (SMR), nos resultados in vitro, SMR demonstrou uma leve atividade de translocação do GLUT4, aumentando em 1,44 vezes nas células musculares L6. Além disso, quando tratadas com diferentes concentrações de SMR, as células L6 mostraram um aumento significativo na captação de glicose. Nos resultados in vivo ao administrar via oral SMR a camundongos KK-Ay, um modelo de diabetes tipo 2, resultou em uma melhora significativa na resistência à insulina. Houve uma melhora na tolerância à glicose, com uma redução nos níveis de glicose no sangue em jejum. O SMR também aumentou a expressão do transportador de glicose GLUT4 nas células L6, no músculo esquelético e no tecido adiposo branco. O estigmasterol demonstrou ter efeitos benéficos no tratamento do diabetes mellitus tipo 2, possivelmente através da facilitação da translocação e aumento da expressão do transportador de glicose GLUT4. Esses achados indicaram o estigmasterol como uma adição promissora ao arsenal de tratamentos para o controle do diabetes tipo 2.

3.6 Efeito da hiperglicemia crônica no perfil lipídico do peixe-zebra

A partir dos valores verificados nos animais controle, observou-se alterações típicas da dislipidemia diabética, em que indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) geralmente apresentam níveis baixos de HDL, níveis elevados de LDL e níveis elevados de triglicerídeos (TG) (Feingold e Grunfeld, 2023). A hiperglicemia crônica elevou significativamente ($p < 0,005$) os níveis de LDL (61,27 mg/dL) e TG (162,91 mg/dL), quando comparados ao controle (33,94 e 132,3 mg/dL; LDL e TG, respectivamente). Além disso, os níveis de HDL foram reduzidos de 73,12 para 39,56 mg/dL ($p < 0,005$). Pacientes com diabetes representam um importante grupo de alto risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) (Bahiru, 2021). Os resultados da hiperglicemia crônica nos principais parâmetros lipídicos do peixe-zebra podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4. Efeitos da indução da hiperglicemia no perfil lipídico

	CT (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	TG (mg/dL)
Controle	124,2 $\pm 4,82$	73,12 $\pm 10,66^a$	33,94 $\pm 9,90^a$	28,69 $\pm 3,90$	132,3 $\pm 9,31^a$
Hiperglicêmicos	133,4 $\pm 10,56$	39,56 $\pm 3,81^b$	61,27 $\pm 5,75^b$	32,58 $\pm 4,97$	162,91 $\pm 24,89^b$

Médias $\pm$ desvio-padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$).

3.7 Efeito do tratamento no perfil lipídico do peixe-zebra

As alterações do perfil lipídico geradas no modelo de hiperglicemia foram persistentes até o final do sexto dia, após retirada dos animais da solução contendo glicose, momento em que o colesterol total (CT) dos animais não tratados ($157,70 \pm$

7,88 mg/dL) também apresentou aumento significativo ($p < 0,005$), em relação ao controle ($124,2 \pm 4,82$ mg/dL). O tratamento por 6 dias com as bioformulações demonstrou ação no controle da dislipidemia ocasionada no modelo hiperglicêmico, como pode ser observado na tabela 5.

A bioformulação OUF-BE, na concentração de 12,5 mg/mL, conseguiu atenuar todos parâmetros alterados pela hiperglicemia crônica, reduzindo significativamente ($p < 0,005$) CT ($125,6 \pm 14,36$), LDL ($32,03 \pm 17,62$), TG ($138,9 \pm 7,10$) e aumentando HDL ($54,05 \pm 8,25$), apresentando níveis semelhantes aos animais saudáveis, sendo, portanto, bastante promissora na modulação geral do CT e das lipoproteínas. Adicionalmente, na menor concentração testada, OUF-BE conseguiu reduzir apenas LDL ($39,56 \pm 14,11$) e TG ($133,4 \pm 26,83$) e aumentar HDL ($83,81 \pm 5,51$), apresentando níveis similares ao grupo controle. O efeito de OHE-BE na modulação do perfil lipídico foi mais discreto do que OUF-BE, reduzindo apenas LDL na menor concentração (6,25 mg/mL) e TG na concentração de 12,5 mg/mL, contudo, ambas as concentrações de OHE-BE foram capazes de aumentar o HDL. A metformina não foi capaz de modular o perfil lipídico, apresentando semelhança ao perfil encontrado nos animais tratados apenas com azeite.

Os resultados indicam que a bioformulação contendo fração insaponificável do epicarpo do buriti (OUF-BE) tem um potencial significativo na melhora do perfil lipídico em peixe-zebra hiperglicêmico, especialmente em reduzir os níveis de colesterol total e LDL-c. Isso pode ser atribuído aos compostos bioativos presentes na fração insaponificável, como os fitoesteróis, que são conhecidos por seus efeitos hipolipidêmicos. A bioformulação OUF-BE 12,5 mg/mL se destacou como a mais eficaz no manejo do perfil lipídico, mostrando-se superior ao azeite de oliva e à metformina, o que reforça o potencial terapêutico das bioformulações com frações insaponificáveis na gestão de dislipidemias associadas ao diabetes.

Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Aquino et al. (2023), em que o óleo de buriti reverteu o aumento dos níveis de LDL nos ratos com dieta contendo óleo de buriti (BFe) causado pela sobrecarga de ferro, o que não foi observado nos ratos alimentados com uma dieta contendo óleo de soja (SFe), efeito que, segundo o autor, pode ser atribuído aos compostos presentes no óleo de buriti, como ácido oleico, β -caroteno e α -tocoferol, e estes por estarem presentes em grande quantidade no óleo de buriti podem ser responsáveis por minimizar a oxidação das lipoproteínas e, conseqüentemente, diminuir os níveis séricos de LDL.

Tabela 5. Efeito do tratamento com a bioformulação no perfil lipídico.

	Colesterol (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	TG (mg/dL)
Controle	124,20 $\pm$ 4,82^a	73,12 $\pm$ 10,66^a	33,94 $\pm$ 9,90^a	28,69 $\pm$ 3,90 ^a	132,30 $\pm$ 9,31^a
Veículo	157,70 $\pm$ 7,88 ^b	48,55 $\pm$ 4,75 ^b	70,72 $\pm$ 13,66 ^b	29,83 $\pm$ 7,62 ^a	149,10 $\pm$ 38,11 ^a
Metformina	144,90 $\pm$ 20,9 ^b	48,73 $\pm$ 10,28 ^b	68,12 $\pm$ 12,98 ^b	36,93 $\pm$ 6,64 ^a	194,60 $\pm$ 18,73 ^b
OHE-BE 6,25	141,50 $\pm$ 4,48 ^b	77,25 $\pm$ 8,81^a	37,85 $\pm$ 7,05^a	29,69 $\pm$ 5,23 ^a	148,40 $\pm$ 26,44 ^a

OHE-BE 12,5	175,40 ± 12,29 ^b	85,81 ± 5,88^a	62,78 ± 8,32 ^b	25,36 ± 1,07 ^a	126,80 ± 5,36^a
OUF-BE6,25	151,20 ± 7,17 ^b	83,81 ± 5,51^a	39,56 ± 14,11^a	26,69 ± 5,36 ^a	133,40 ± 26,83^a
OUF-BE 12,5	125,60 ± 14,36^a	54,05 ± 8,25^a	32,03 ± 17,62^a	27,78 ± 1,42 ^a	138,90 ± 7,10^a

Médias ± desvio-padrão. Letras diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). OHE-BE: azeite de oliva adicionado de extrato hexânico do epicarpo do buriti; OUF-BE: azeite de oliva adicionado de fração insaponificável do epicarpo do buriti.

Em estudo semelhante foi avaliado o efeito da suplementação com óleo de buriti bruto e azeite de oliva extra virgem, em diferentes dosagens e combinações, nos parâmetros metabólicos, como níveis de HDL-c, não HDL-c, IL-6 e resistina. A suplementação em que havia a combinação de azeite de oliva e óleo de buriti apresentaram uma forte relação entre HDL-c e não HDL-c. Os resultados indicaram que a combinação de óleo de buriti com azeite de oliva extra virgem pode oferecer benefícios cardioprotetores, além de ser um excelente suplemento alimentar para consumo humano (Marcelino, et al., 2022).

Em estudos que também utilizaram modelos de hiperglicemia, também identificaram um efeito do buriti em modular a dislipidemia diabética. No estudo de Wang et al., (2017) que investigou a atividade antidiabética do estigmasterol (SMR), nos resultados *in vivo* ao administrar via oral SMR a camundongos KK-Ay, um modelo de diabetes tipo 2, resultou em uma redução nos índices lipídicos, incluindo, colesterol total, triglicerídeos e LDL. Além disso, reduziu a insulina e aumentou os níveis de HDL.

Em ratos diabéticos, a administração de β -sitosterol e lupeol resultou numa queda considerável no colesterol total, triglicerídeos, LDL-C, VLDL-C e índice aterogênico, juntamente com um aumento simultâneo de HDL-C. Desses dois fitoquímicos, o β -sitosterol teve um efeito significativo na redução do perfil lipídico. Assim o β -sitosterol melhorou o perfil lipídico e a melhora na resistência à insulina ou secreção de insulina podem ser diretamente responsáveis pela reversão do perfil lipídico e redução do índice aterogênico em ratos tratados com β -sitosterol e lupeol. Isto implica que o lupeol e o β -sitosterol podem ter um papel na redução do diabetes e na prevenção de doenças cardíacas (Sundaram, Muthu e Prabakaran, 2024).

3.8 Efeito da indução da hiperglicemia crônica na produção de EROs nos tecidos hepáticos e cerebral do peixe-zebra.

O estado hiperglicêmico frequentemente gera estresse oxidativo, devido a um desequilíbrio no sistema de defesa antioxidante (Fan e Wong, 2023). Essa relação também foi constatada neste estudo, pois após 14 dias de exposição à glicose, a produção de EROs nos tecidos cerebral e hepático foram alterados ($p < 0,005$). O percentual de aumento de EROs no cérebro foi de 200%. No fígado, esse aumento percentual foi ainda maior, em torno de 400%.

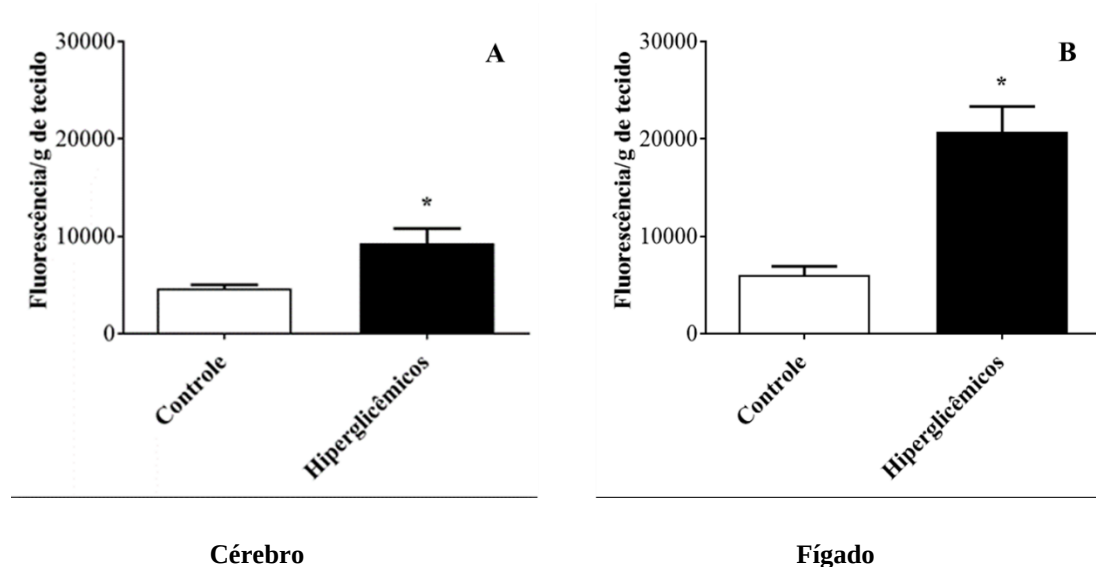


Figura 5. Efeito da indução na produção de EROs no cérebro e fígado.

Evidências de que a hiperglicemia induz a superprodução de EROs estão bem estabelecidas através de uma combinação de estudos celulares, modelos animais e pesquisas clínicas (Muthukumar, et al., 2022). Esta superprodução de EROs está diretamente relacionada ao desenvolvimento e progressão das complicações microvasculares e macrovasculares do diabetes. Intervenções que visam reduzir o estresse oxidativo têm o potencial de mitigar essas complicações e melhorar os resultados clínicos para pacientes diabéticos. A hiperglicemia crônica promove a geração de radicais livres, que podem levar à peroxidação lipídica, glicação proteica não enzimática, alterações estruturais e funcionais na membrana basal e no colágeno e inativação enzimática, que contribuem para complicações do diabetes (Liguori et al., 2018).

3.9 Efeito do tratamento na produção de EROS nos tecidos hepáticos e cerebral do peixe-zebra

O tratamento com as bioformulações, por 6 dias, reduziu significativamente ($p < 0,005$) a produção de EROs nos tecidos cerebrais e hepáticos dos animais (Figura 6). Ação antioxidante significativa ($p < 0,005$), no tecido cerebral, ocorreu nos grupos tratados com OHE-BE (9252,2 para 7827,4 fluorescência/g de tecido) e OUF-BE (9252,2 para 8504,7 fluorescência/g de tecido) na concentração de 12,5 mg/mL. Contudo, apenas OUF-BE (6,25 mg/mL) foi capaz de restabelecer a normalidade ($4224,8 \pm 1936,5$ fluorescência /g de tecido). O mesmo não foi observado quando os animais foram tratados com a metformina ($12477 \pm 946,59$ fluorescência/g de tecido) e o azeite ($9970 \pm 1337,6$ fluorescência/g de tecido), permanecendo com níveis de EROs significativamente ($p < 0,005$) aumentados quando comparados ao controle ($4717,2 \pm 1086,1$) (Figura 6A).

Em relação ao tecido hepático, ambas concentrações testadas de OHE-BE (7087,4 e 7527,1 para 6,25 e 12,5 mg/mL, respectivamente) e OUF-BE (6356 e 4798,1 para 6,25 e 12,5 mg/mL, respectivamente), atenuaram a produção de EROs no tecido, restabelecendo os níveis normais ($5970,3 \pm 2505,1$ fluorescência/g de tecido) desse parâmetro. A metformina também atenuou e restabeleceu a normalidade em relação a produção de EROs no tecido hepático ($8966 \pm 3166,1$) (Figura 6B).

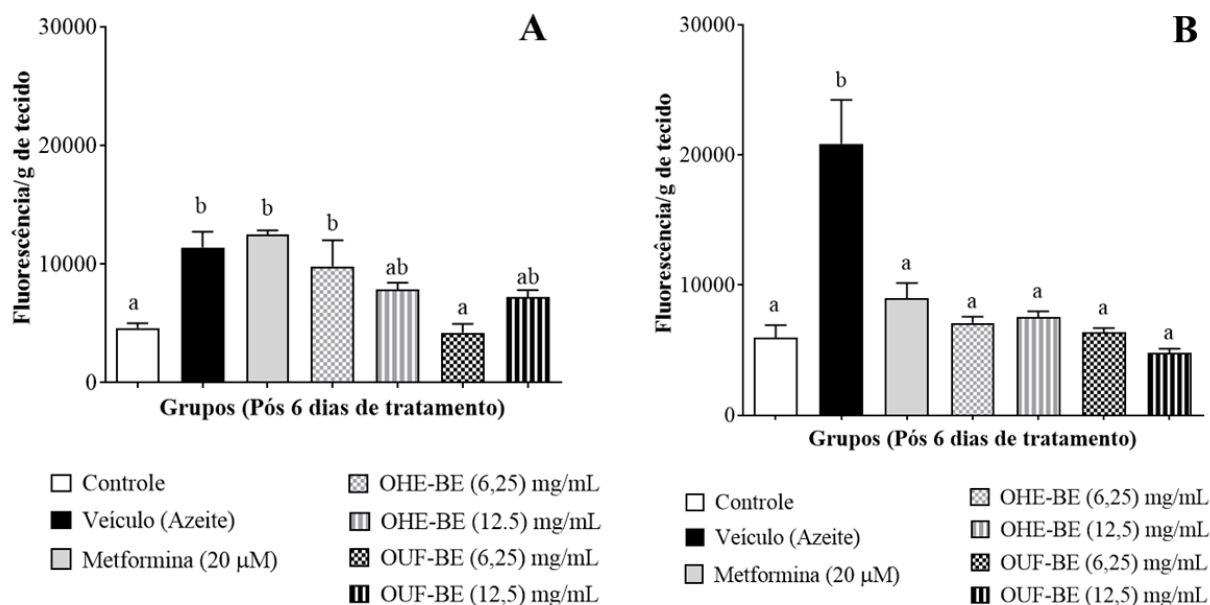


Figura 6. Efeito do tratamento com a bioformulação nos níveis de EROs no cérebro e no fígado.

A hiperglicemia crônica aumenta a produção de EROs nas células, principalmente através da mitocôndria. Esta superprodução de EROs leva ao dano oxidativo de proteínas, lipídios e DNA, contribuindo para as complicações microvasculares e macrovasculares do diabetes (Testa et al., 2017). Pacientes com diabetes frequentemente exibem uma capacidade antioxidante reduzida, o que agrava o impacto do estresse oxidativo. A falta de antioxidantes adequados para neutralizar as EROs resulta em danos celulares contínuos e inflamação crônica. As terapias para diabetes devem ir além do simples controle glicêmico e abordar o estresse oxidativo e a capacidade antioxidante para prevenir complicações crônicas (Bhatti et al., 2022; Rajlic et al., 2023).

A redução de EROs promovida pelo tratamento neste ensaio corrobora o efeito antioxidante direto das amostras evidenciado anteriormente pelos ensaios de DPPH e ABTS. O gerenciamento direto do estresse oxidativo observado nos grupos tratados com as bioformulações são promissores e foram registrados tanto no tecido cerebral quanto no hepático. O mesmo não ocorreu nos grupos tratados com a metformina, tendo a mesma apresentado efeito antioxidante apenas no tecido hepático. Provavelmente a atenuação do estresse oxidativo promovido pela metformina nesse tecido pode ser explicado pelo fato de que esse medicamento atua principalmente na gliconeogênese, exercendo, nesse sentido, um papel hepatoprotetor (Feng, Wang, Pang, 2023).

No estudo de Zhang et al. (2023) foi investigado os efeitos antioxidantes e antiinflamatórios do β -sitosterol no peixe-zebra, além dos mecanismos moleculares associados. Numa experiência antioxidante *in vivo*, larvas de peixe-zebra (*Danio rerio*) foram tratadas com diferentes concentrações de β -sitosterol e depois expostas a uma concentração não letal de CuSO₄ para induzir estresse oxidativo. O tratamento com β -sitosterol a 70 ou 100 μ g/mL reduziu significativamente o estresse oxidativo induzido por CuSO₄ no peixe-zebra, demonstrando a forte atividade antioxidante do β -sitosterol. O tratamento com β -sitosterol protegeu larvas de peixe-zebra contra danos oxidativos de CuSO₄, regulando positivamente as expressões de *sod* e *gpx4b*. Os resultados demonstram a atividade antioxidante do β -sitosterol e sugeriram que este composto pode ser útil para o tratamento de várias doenças inflamatórias.

Um dos componentes presentes no extrato e na fração é o esqualeno, que pode ter contribuído como antioxidante na inibição dos radicais DPPH. No estudo de Zhang et al.(2023), sobre as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes do esqualeno na inflamação induzida por sulfato de cobre em peixe-zebra, verificou-se que o esqualeno pode reduzir a produção de EROs em um modelo de inflamação de peixe-zebra induzido por CuSO₄ e aumentar a expressão de *sod* e *gpx4b* para inibir o estresse oxidativo.

4 Conclusão

O estudo realizado evidenciou a complexidade e o potencial terapêutico dos compostos derivados do epicarpo de buriti, tanto em termos de efeitos citotóxicos quanto de atividade antioxidante, bem como na gestão de complicações associadas ao diabetes, abordando diferentes aspectos da saúde celular e metabólica.

Os resultados desta pesquisa evidenciaram o potencial terapêutico do epicarpo de buriti, particularmente na modulação da hiperglicemia e do estresse oxidativo. A fração insaponificável (UF) destacou-se por sua significativa redução na viabilidade celular em linhagens tumorais, sugerindo um considerável potencial quimioterápico, possivelmente relacionado à presença majoritária de fitoesteróis como o β -sitosterol. A eficácia antioxidante mostrou que o HE é mais eficaz em baixas concentrações, enquanto a UF demonstrou uma maior eficácia em concentrações mais altas, sendo ambas promissoras na inibição de radicais livres. No modelo de hiperglicemia crônica em peixe-zebra, as bioformulações contendo UF foram eficazes na normalização da glicemia e na modulação do perfil lipídico, superando em alguns aspectos a eficácia da metformina, especialmente no controle glicêmico e na redução da frutossamina.

Além disso, as bioformulações reduziram significativamente a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), sugerindo uma ação antioxidante eficaz, o que pode ser atribuído aos compostos bioativos presentes, como β -sitosterol e esqualeno. Estes achados indicam que a fração insaponificável do buriti possui um grande potencial como agente multifuncional na gestão da hiperglicemia, estresse oxidativo, dislipidemia diabética e como agente quimiopreventivo. A sua incorporação em produtos como o azeite pode maximizar os benefícios à saúde, oferecendo uma abordagem sinérgica e inovadora na prevenção e tratamento de doenças crônicas. No entanto, é essencial continuar com pesquisas para validar e expandir essas descobertas, garantindo segurança e eficácia em contextos clínicos.

REFERÊNCIAS

Capiotti KM, Antonioli R, Kist LW, Bogo MR, Bonan CD, Da Silva RS. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2014;171:58-65. doi:10.1016/j.cbpb.2014.03.005.

Eruslanov E, Kusmartsev S. Identification of ROS Using Oxidized DCFDA and Flow-Cytometry. In: Armstrong D, editor. *Advanced Protocols in Oxidative Stress II*. Vol. 594. Humana Press; 2010. p. 57-72. doi:10.1007/978-1-60761-411-1_4.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499-502.

Leary SL, editor. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition. 2020 ed. American Veterinary Medical Association; 2020.

OECD. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. *OECD*; 2019. doi:10.1787/9789264069961-en.

Pasciu V, Nieddu M, Sotgiu FD, Baralla E, Berlinguer F. An Overview on Assay Methods to Quantify ROS and Enzymatic Antioxidants in Erythrocytes and Spermatozoa of Small Domestic Ruminants. *Animals*. 2023;13(14):2300. doi:10.3390/ani13142300.

Pirillo A, Casula M, Olmastroni E, Norata GD, Catapano AL. Global epidemiology of dyslipidaemias. *Nat Rev Cardiol*. 2021;18:689-700. doi:10.1038/s41569-021-00541-4.

World Health Organization. Noncommunicable Diseases: Risk Factors. The Global Health Observatory. 2021. Available from: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/topic-details/GHO/ncd-risk-factors>. Accessed 21 February 2024.

Global Health Data Exchange. GBD Results Tool. Institute for Health Metrics and Evaluation. 2021. Available from: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>. Accessed 21 February 2024.

Huffman KM, Hawk VH, Henes ST, et al. Exercise effects on lipids in persons with varying dietary patterns—does diet matter if they exercise? Responses in studies of a targeted risk reduction Intervention through defined exercise I. *Am Heart J*. 2012;164(1):117-24.

Vaziri ND. Role of dyslipidemia in impairment of energy metabolism, oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2014;18(2):265-8.

Kim MH, Choi WS. The association between subclinical inflammation and abnormal glucose and lipid metabolisms in normal-weight Korean individuals. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2018;28(11):1106-13.

Luc K, Luc-Schramm A, Guzik TJ, Mikolajczyk TP. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. *J Physiol Pharmacol.* 2019;70(6):809-24. doi:10.26402/jpp.2019.6.01.

Bomholt T, Feldt-Rasmussen B, Butt R, Borg R, Sarwary MH, Elung-Jensen T, et al. Hemoglobin A1c and Fructosamine Evaluated in Patients with Type 2 Diabetes Receiving Peritoneal Dialysis Using Long-Term Continuous Glucose Monitoring. *Nephron.* 2022;146(2):146-52. doi:10.1159/000519493.

Prasad M, Jayaraman S, Elad MA, El-Sherbiny M, Abdelrahman MAE, Veeraraghavan VP, et al. A Comprehensive Review on Therapeutic Perspectives of Phytosterols in Insulin Resistance: A Mechanistic Approach. *Molecules.* 2022;27(1595). doi:10.3390/molecules27051595.

IDF Diabetes Atlas 2021—10th Edition. Available from: https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf.

Wang WL, Chen SM, Lee YC, Chang WW. Stigmasterol inhibits cancer stem cell activity in endometrial cancer by repressing IGF1R/mTOR/AKT pathway. *J Funct Foods.* 2022;99.

Ramprasath VR, Awad AB. Role of Phytosterols in Cancer Prevention and Treatment. *J AOAC Int.* 2015;98(3):735-738.

Bahiru E, Hsiao R, Phillipson D, Watson KE. Mechanisms and Treatment of Dyslipidemia in Diabetes. *Curr Cardiol Rep.* 2021;23(26). doi:10.1007/s11886-021-01455-w.

Filho RLS, Albuquerque L, Cavalcanti S, Tambascia M. Tratamento farmacológico da hiperglicemia no DM2. *Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes.* 2023. doi:10.29327/557753.2022-10. ISBN: 978-85-5722-906-8.

Poznyak A, Grechko AV, Poggio P, Myasoedova VA, Alfieri V, Orekhov AN. The diabetes mellitus–atherosclerosis connection: The role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5). doi:10.3390/ijms21051835.

Antar SA, Ashour NA, Sharaky M, Khattab M, Ashour N, Zaid RT, et al. Diabetes mellitus: Classification, mediators, and complications; A gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. *Biomed Pharmacother.* 2023;168. doi:10.1016/j.biopha.2023.115734.

Silva APA, Neto JXS, Silva JIG, Bezerra ALP, Silva BB, Guedes MIF. Modified procedure for simple and rapid collection of zebrafish fluid samples for biochemical analyses. *Zebrafish.* 2024. doi:10.1089/zeb.2023.0101.

Sousa WC, Morais RA, Zuniga ADG. Buriti (*Mauritia flexuosa*) shell flour: Nutritional composition, chemical profile, and antioxidant potential as a strategy for valuing waste from native Brazilian fruits. *Food Res Int.* 2024;190. doi:10.1016/j.foodres.2024.114578.

Mukai E, Fujimoto S, Inagaki N. Role of Reactive Oxygen Species in Glucose Metabolism Disorder in Diabetic Pancreatic Beta-Cells. *Biomolecules*. 2022;12(1228).

Muthukumar B, Parthipan P, Alsalhi MS, Prabhu NS, Rao TN, Devanesan S, et al. Characterization of bacterial community in oil-contaminated soil and its biodegradation efficiency of high molecular weight (>C40) hydrocarbon. *Chemosphere*. 2022;289.

Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757-772.

Krishnan M, Babu S, Rajagopal P, Nazaré SP, Chinnaiyan M, Jayaraman S. Efeito do β -sitosterol no receptor de insulina, expressão da proteína do transportador de glicose 4 e oxidação da glicose no músculo gastrocnêmio de ratos experimentais diabéticos tipo -2 induzidos por dieta rica em gordura. *Ind J Pharm Educ Res*. 2021;55:479-491.

Raju L, Lipin R, Eswaran R. Identification, ADMET evaluation and molecular docking analysis of Phytosterols from Banaba (*Lagerstroemia speciosa* (L.)Pers) seed extract against breast cancer. In *Silico Pharmacol*. 2021;9(43). doi:10.1007/s40203-021-00104-y.

Wang H, Wang Z, Zhang Z, Liu J, Hong L. β -Sitosterol as a Promising Anticancer Agent for Chemoprevention and Chemotherapy: Mechanisms of Action and Future Prospects. *Adv Nutr*. 2023;14:1085-1110.

Zhang P, Liu N, Xue M, Zhang M, Liu W, Xu C, et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of β -Sitosterol in Copper Sulfate-Induced Inflammation in Zebrafish (*Danio rerio*). *Antioxidants*. 2023;12(391). doi:10.3390/antiox12020391.

Jayaraman S, Devarajan N, Rajagopal P, Babu S, Ganesan SK, Veeraraghavan VP, et al. β -Sitosterol Circumvents Obesity Induced Inflammation and Insulin Resistance by down-Regulating IKK β /NF- κ B and JNK Signaling Pathway in Adipocytes of Type 2 Diabetic Rats. *Molecules*. 2021;26(2101). doi:10.3390/molecules26072101.

Ponnulakshmi R, Shymaladevi B, Vijayalakshmi P, Selvaraj J. In silico and in vivo analysis to identify the antidiabetic activity of beta sitosterol in adipose tissue of high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic experimental rats. *Toxicol Mech Methods*. 2019;29:276-290. doi:10.1080/15376516.2018.1545815.

Sundaram R, Muthu K, Prabhakaran J. Ameliorative potential of β -sitosterol and lupeol on high fat diet and streptozotocin-induced hepatorenal and cardiac complications via regulation of carbohydrate metabolic enzymes in diabetic rats. *Pharmacol Res Mod Chin Med*. 2024;11. doi:10.1016/j.prmcm.2024.100416.

Wang J, Huang M, Yang J, Ma X, Zheng S, Denga S, et al. Anti-diabetic activity of stigmasterol from soybean oil by targeting the GLUT4 glucose transporter. *Food Nutr Res*. 2017;61. doi:10.1080/16546628.2017.1364117.

Yang B, Zhao T, Ji S, Liu Y, Xu M, Lu B. Molecular dynamics simulations of the interfacial behaviors and photo-oxidation of phytosterol under different emulsion oil content. *Food Chem*. 2023;451. doi:10.1016/j.foodchem.2024.139292.

Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 1958;181(4617):1199-1200. doi:10.1038/1811199a0.

Zhang P, Liu N, Xue M, Zhang M, Xiao Z, Xu C, et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Squalene in Copper Sulfate-Induced Inflammation in Zebrafish (*Danio rerio*). *Int J Mol Sci*. 2023;24(8518). doi:10.3390/ijms24108518.

Kumar A, Nirmal P, Kumar M, Jose A, Tomer V, Oz E, et al. Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method. *Molecules*. 2023;28(887). doi:10.3390/molecules28020887.

Feingold KR, Grunfeld C. Diabetes and Dyslipidemia. In: Johnstone M, Veves A, editors. Diabetes and Cardiovascular Disease. *Contemporary Cardiology. Humana, Cham*; 2023. doi:10.1007/978-3-031-13177-6_14.

Malcangi G, Patano A, Ciocia AM, Netti A, Viapiano F, Palumbo I, et al. Benefits of natural antioxidants on oral health. *Antioxidants*. 2023;12(6):1309. doi:10.3390/antiox12061309.

Fan W, Wong ND. Epidemiologia, controle e resultados cardiovasculares da dislipidemia no diabetes. In: Jenkins AJ, Toth PP, editors. Lipoproteínas no diabetes mellitus. *Diabetes contemporâneo. Humana, Cham*; 2023. doi:10.1007/978-3-031-26681-2_32.

Overgaard KS, Mohamed RA, Andersen TR, et al. Protocolo do ensaio ProtecT-2-D: proteção cardiovascular em pacientes com diabetes tipo 2 e doença cardíaca e/ou vascular estabelecida em uma clínica cardiometabólica — um ensaio clínico randomizado e controlado. *Cardiovasc Diabetol*. 2024;23(241). doi:10.1186/s12933-024-02340-w.

Caturano A, D'Angelo M, Mormone A, Russo V, Mollica MP, Salvatore T, et al. Estresse oxidativo no diabetes tipo 2: impactos da patogênese às modificações do estilo de vida. *Curr Issues Mol Biol*. 2023;45(8):6651-6666. doi:10.3390/cimb45080420.

Feng YY, Wang Z, Pang H. Papel da metformina na inflamação. *Mol Biol Rep*. 2023;50:789–798. doi:10.1007/s11033-022-07954-5.

Kanunfre CC, Leffers T, Cruz LS, Luz LEC, Crisma AR, Wang M, Avula B, Khan IA, Beltrame FL. Euphorbia umbellata bark extracts – an in vitro cytotoxic study. *Rev Bras Farmacogn*. 2017;27(2). <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.11.002>.

Roy AC, Singh K, Prasad A, Kulshreshtha D, Priya K, Kumari A, Ghosh I. Enhancing anticancer activity of Clerodendrum viscosum vent. extracts by solvent fractionation: An in vitro and in silico mechanistic study. *Process Biochem*. 2024;145. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.07.007>.

Silva NRRN, Cavalcante RBM, Silva FA. Nutritional properties of Buriti (*Mauritia flexuosa*) and health benefits. *J Food Compost Anal*. 2023;117:105092. doi:10.1016/j.jfca.2022.105092.

CONCLUSÕES

A fração insaponificável do epicarpo do buriti apresenta um potencial terapêutico abrangente, incluindo propriedades antioxidantes, antiproliferativas e de modulação metabólica. As bioformulações derivadas desse coproduto representam uma inovação promissora para a prevenção e tratamento de doenças crônicas, destacando a importância da valorização de recursos naturais subutilizados e seu impacto positivo na saúde e na sustentabilidade.

A pesquisa apresenta um processo padronizado para a obtenção de extratos e frações insaponificáveis do buriti, revelando seu potencial como fonte de compostos bioativos com múltiplas aplicações, desde medicamentos e cosméticos até suplementos alimentares. A análise detalhada dos componentes do epicarpo evidencia sua riqueza em fitoesteróis, tocoferóis, e terpenoides, substâncias que têm demonstrado benefícios na promoção da saúde cardiovascular e no manejo de dislipidemias. A incorporação desses coprodutos em bioformulações, especialmente quando combinados com azeite de oliva extravirgem, resultou em produtos inovadores com efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e hipocolesterolêmicos. Essas formulações não só se mostraram eficazes na modulação da hiperglicemia e do estresse oxidativo em modelos experimentais, mas também sugerem uma alternativa promissora aos tratamentos tradicionais para o diabetes tipo 2. Além de promoverem a sustentabilidade ao valorizar recursos naturais subutilizados, essas bioformulações têm o potencial de beneficiar a saúde pública, oferecendo novas oportunidades para o desenvolvimento de produtos com alto valor agregado que impactam positivamente tanto a ciência quanto a sociedade. No entanto, é fundamental continuar com pesquisas para validar e expandir essas descobertas, assegurando a segurança e eficácia das bioformulações em contextos clínicos.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados e produtos apresentados nesta tese representam apenas os primeiros passos em um campo vasto, mas ainda pouco explorado, dos coprodutos da *Mauritia flexuosa*. Para expandir o conhecimento sobre o buriti (*Mauritia flexuosa*), seus coprodutos e bioformulações, alguns estudos podem ser explorados. Embora a eficácia das bioformulações tenha sido demonstrada, os mecanismos moleculares exatos pelos quais os fitoesteróis, tocoferóis e outros compostos do buriti exercem seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, e quimiopreventivos ainda não estão completamente elucidados. Estudos adicionais focados em vias de sinalização celular, expressão gênica, e interações proteicas poderiam esclarecer como esses compostos atuam em nível molecular.

Apesar da toxicidade aguda ter sido avaliada, estudos de segurança a longo prazo são necessários para entender possíveis efeitos adversos associados ao uso prolongado das bioformulações. A estabilidade dos compostos bioativos nas bioformulações durante o armazenamento e após a exposição a diferentes condições ambientais (temperatura, umidade, luz) é fundamental para garantir a eficácia ao longo do tempo. Estudos sobre a estabilidade podem ajudar a otimizar as condições de armazenamento e distribuição.

Após os resultados promissores em modelos experimentais, é necessário realizar ensaios clínicos em humanos para avaliar a eficácia e a segurança das bioformulações derivadas do buriti no tratamento de diabetes tipo 2, dislipidemias, e estresse oxidativo. Esses estudos poderiam confirmar a relevância das formulações para uso clínico e identificar possíveis efeitos adversos.

Pesquisas mais aprofundadas sobre a bioacessibilidade dos compostos bioativos devem ser exploradas para entender como esses compostos são metabolizados e distribuídos no organismo após a ingestão, para assim otimizar as formulações e garantir a eficácia terapêutica.

Ampliar o foco para investigar o impacto das bioformulações de buriti em outros sistemas fisiológicos e em outras condições crônicas além da diabetes e dislipidemias, como doenças neurodegenerativas, autoimunes ou inflamatórias. Isso poderia ampliar o espectro de uso terapêutico dessas formulações.

REFERÊNCIAS

- 1 Embrapa, Superintendência Estratégica. *O futuro da agricultura brasileira: 10 visões*. Brasília, DF: Embrapa; 2023.
- 2 IBGE, Quantidade produzida e valor da produção ~ na extração ao vegetal, por tipo de produto extrativo. <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/289#resultado>, 2022.
- 3 Zuin VG, Segatto ML, Towards KZ. A green and sustainable fruit waste valorisation model in Brazil: optimisation of homogenizer-assisted extraction of bioactive compounds from mango waste using a response surface methodology. *Pure Appl Chem*. 2020;92(4):617-29. doi: 10.1515/pac-2019-1001.
- 4 Morais RA, Teixeira GL, Ferreira SRS, Cifuentes A, Block JM. Nutritional Composition and Bioactive Compounds of Native Brazilian Fruits of the Arecaceae Family and Its Potential Applications for Health Promotion. *Nutrients*. 2022;14(19):4009. doi: 10.3390/nu14194009.
- 5 Nanda PK, Das AK, Dandapat P, Dhar P, Bandyopadhyay S, Dib AL, et al. Nutritional aspects, flavour profile and health benefits of crab meat based novel food products and valorisation of processing waste to wealth: A review. *Trends Food Sci Technol*. 2021;112:252-67. doi: 10.1016/j.tifs.2021.03.059.
- 6 Banerjee S, Ranganatha V, Patti A, Arora A. Valorisation of pineapple wastes for food and therapeutic applications. *Trends Food Sci Technol*. 2018;82:60-70. doi: 10.1016/j.tifs.2018.09.024.
- 7 Sharma P, Vishvakarma R, Gautam K, Vimal A, Gaur VK, Farooqui A, et al. Valorization of citrus peel waste for the sustainable production of value-added products. *Bioresour Technol*. 2022;351:127064.
- 8 Tiwari A, Singh G, Chowdhary K, Choudhir G, Sharma V, Sharma S, et al. Co-product recovery in food processing. In: *Smart and Sustainable Food Technologies*. Singapore: Springer Nature.
- 9 Zhu Y, Luan Y, Zhao Y, Liu J, Duan Z, Ruan R. Current Technologies and Uses for Fruit and Vegetable Wastes in a Sustainable System: A Review. *Foods*. 2023;12(10):1949. doi: 10.3390/foods12101949.
- 10 Cangussu LB, Fronza P, Cavalcanti WM. Fiber-rich powders of tropical fruits by-products: a bibliographic review on their bioactive compounds. *Res Soc Dev*. 2020;9(9). doi: 10.33448/rsd-v9i9.6803.
- 11 Dimou E, Consentino K, Platonova E, Ros U, Sadeghi M, Kashvap P, et al. Single event visualization of unconventional secretion of FGF2. *J Cell Biol*. 2019;218(2):683-99. doi: 10.1083/jcb.201802008.
- 12 Reguengo LM, Salgaço MK, Sivieri K, Júnior MRM. Agro-industrial by-products: Valuable sources of bioactive compounds. *Food Res Int*. 2022;152:110871. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110871.

- 13 Drabínska N, Nogueira M, Szmatołowicz B. Valorisation of Broccoli By-Products: Technological, Sensory and Flavour Properties of Durum Pasta Fortified with Broccoli Leaf Powder. *Molecules*. 2022;27(15):4672. doi: 10.3390/molecules27154672.
- 14 Resende LM, Franca AS, Oliveira LS. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. *Food Chem*. 2019;270:53-60.
- 15 Sousa WC, Morais RA, Zuniga ADG. Buriti (*Mauritia flexuosa*) shell flour: Nutritional composition, chemical profile, and antioxidant potential as a strategy for valuing waste from native Brazilian fruits. *Food Res Int*. 2024;190. doi: 10.1016/j.foodres.2024.114578.
- 16 Henderson A, Galeano G, Bernal R. Field Guide to the Palms of the Americas. Princeton: *Princeton University Press*; 2019. p. 5390.
- 17 Dos Santos Freitas D, Alcântara GB. Metabolic study of dioecy in *Mauritia flexuosa*: NMR-based and chemometric approaches. *Phytochem Anal*. 2018;29(3):316-324.
- 18 Santos D, Silva F, Lopes C, Oliveira R. Nutritional value and potential uses of *Mauritia flexuosa* in the food industry. *Food Chem*. 2015;188:24-31.
- 19 Freitas, M., Chiste, R., Polachini, T., Sardella, L., Aranha, C., Ribeiro, A., Nicoletti, V., 2018. Quality characteristics and thermal behavior of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil *Grasas Aceites* 68(4), 220.
- 20 Lescano CH, de Oliveira IP, Freitas de Lima F, Baldivia DDS, Justi PN, Cardoso CAL, Raposo Júnior JL, Sanjinez-Argandona EJ. Nutritional and chemical characterizations of fruit obtained from *Syagrus romanzoffiana*, *Attalea dubia*, *Attalea phalerata* and *Mauritia flexuosa*. *J Food Meas Charact*. 2018;12(2):1284-1294.
- 21 Hoek Vander Y, Solas SA, Penuela MC. The palm *Mauritia flexuosa*, a keystone plant resource on multiple fronts. *Biodivers Conserv*. 2019;1-13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10531-018-01686-4>
- 22 Nobre CB, de Sousa EO, de Lima Silva JMF, Melo Coutinho HD, da Costa JGM. Chemical composition and antibacterial activity of fixed oils of *Mauritia flexuosa* and *Orbignya speciosa* associated with aminoglycosides. *Eur J Integr Med*. 2018;23:84-89. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.EUJIM.2018.09.009>
- 23 Virapongse A. Social Mechanisms and Mobility: Buriti Palm (*Mauritia flexuosa*) Extractivism in Brazil. *Hum Ecol*. 2017;45(1):119-129. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10745-016-9887-9>.
- 24 Cattani IM, Barúque-Ramos J. *Brazilian buriti palm fiber (Mauritia flexuosa Mart.)*. Dordrecht: Springer; 2016. p. 89-98.
- 25 Vieira IR, Oliveira JS, Santos KPP, Silva GO, Vieira FJ, Barros RFM, et al. A contingent valuation study of buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) in the main region of production in Brazil: Is environmental conservation a collective responsibility? *Acta*

Bot Bras. 2016;30(4):532-539. Available from: <https://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0115>

26 Moura Filho G, Penna L. Agronomic and nutritional characterization of *Mauritia flexuosa*. *Rev Bras Frutic.* 2017;39(5).

27 Koolen HHF, da Silva FMA, da Silva VSV, Paz WHP, Bataglion GA. Buriti fruit—*Mauritia flexuosa*. In: *Exotic Fruits*. 2018. p. 61-67. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00004-6>

28 Ferreira MGR, Costa CJ, Pinheiro CUB, Souza ERB, Carvalho CO. *Mauritia flexuosa*: Buriti. In: Coradin L, Camillo J, Pareyn FGC, editors. *Native Species of Brazilian Flora of Current or Potential Economic Value: Plants for the Future - Northeast Region*. Brasília-DF: Embrapa Cocais (CPACP); 2018. p. 193-204.

29 Manzi M, Coomes O. Consequences of Amazonian palm exploitation on local biodiversity and livelihoods. *Biodivers Conserv.* 2009;18(9):2479-94.

30 Souza FG, Araújo FF, Farias DP, Zanotto AW, Neri-Numa IA, Pastore GM. Brazilian fruits of Arecaceae family: An overview of some representatives with promising food, therapeutic and industrial applications. *Food Res Int.* 2020;138:109690. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109690>

31 Milanez A, Lima R, Pereira E. Influence of geographic and climatic factors on the nutritional composition of *Mauritia flexuosa*. *Food Res Int.* 2018;115:23-9.

32 Cândido TLN, Silva MR. Comparison of the physicochemical profiles of buriti from the Brazilian Cerrado and the Amazon region. *Food Sci Technol.* 2017;37(suppl 1):78-82. Available from: <https://doi.org/10.1590/1678-457x.32516>

33 Darnet SH, da Silva LHM, Rodrigues AMC, Lins RT. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. *Food Sci Technol.* 2011;31(2):488-491. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200032>

34 Sandri DO, Xisto ALRP, Rodrigues EC, Moraes ECde, Barros WMde. Antioxidant activity and physicochemical characteristics of buriti pulp (*Mauritia flexuosa*) collected in the city of Diamantino – MTS. *Braz Fruit Grow J.* 2017;39(3). Available from: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017864>

35 Vasquez-ocmín PG, Solís VES, Torres DDC, Alvarado LF, Lujan MMM. Diferenciación química de três morfotipos de *Mauritia flexuosa* L. f. de la amazonía peruana. *Rev Soc Quím Perú.* 2009;75(3):320-328.

36 Carneiro TB. Fruits and dehydrated buriti pulp (*Mauritia flexuosa* L.): Physical, chemical and technological aspects. *Green J Agroecol Sustain Dev.* 2011;6(2):105-111.

37 Silva E, Pighinelli L. Analysis of bioactive compounds in *Mauritia flexuosa* pulp. *J Agric Food Chem.* 2017;65(40):8896-901.

38 Cantu-Jungles TM, de Almeida CP, Iacomini M, Cipriani TR, Cordeiro LMC. Arabinan-rich pectic polysaccharides from buriti (*Mauritia flexuosa*): An Amazonian

edible palm fruit. *Carbohydr Polym.* 2015;122:276-281. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.085>

39 LMC, De Almeida CP, Iacomini M. Unusual linear polysaccharides: (1→5)- α -L-Arabinan, (1→3)-(1→4)- α -D-glucan and (1→4)- β -D-xylan from pulp of buriti (*Mauritia flexuosa*), an edible palm fruit from the Amazon region. *Food Chem.* 2015;173:141-146. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.020>

40 Cruz MB, Oliveira WS, Araújo RL, Honório França AC, Pertuzatti PB. Buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) pulp oil as an immunomodulator against enteropathogenic *Escherichia coli*. *Ind Crops Prod.* 2020;149:112330. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112330>

41 Serra JL, Rodrigues AMC, de Freitas RA, Meirelles AJA, Darnet SH, Silva LHM. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocopherols, total carotenoids and chemical composition. *Food Res Int.* 2019;116:12-19. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.12.028>

42 Bataglion GA, Paz WHP, Adriaño AAX, da Rocha Albuquerque JM, da Silva FMA, Numa IAN, et al. Bioactive compounds of buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.). In: *Exotic Fruits*. 2019. p. 1-26. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-030-06120-3_29-1

43 Agostini-Costa T. Carotenoid composition of *Mauritia flexuosa* fruits. *J Food Comp Anal.* 2018;72:149-56.

44 Nonato L, Vasconcelos M, Silva P. Antioxidant properties and phenolic profile of *Mauritia flexuosa*. *Food Res Int.* 2018;108:13-20.

45 Resende LM, Franca AS, Oliveira LS. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. *Food Chem.* 2019;270:53-60. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.07.079>

46 Can-Cauich CA, et al. Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. *J Funct Foods.* 2017;37:501-506.

47 Suri S, Singh A, Nema PK. Recent advances in valorization of citrus fruits processing waste: a way forward towards environmental sustainability. *Food Sci Biotechnol.* 2021;30(13):1601-1626.

48 Alexandri M, et al. Sustainable Food Systems: The case of functional compounds towards the development of clean label food products. *Foods.* 2022;11(18):2796.

49 Osorio MJ, Flórez-López E, Grande-Tovar CD. The potential use of fruit and vegetable by-products as natural bioactive compounds. *Food Rev Int.* 2021;37(1):1-23.

50 Chauhan N. Food loss and waste: An overview and challenges. *Waste Manag.* 2020;105:100-7.

- 51 Nascimento Filho V. S., Franco C. M. M. Fruit processing waste utilization: A review. *Food Bioprod Process.* 2015;94:317-30.
- 52 Chavan J. K., Singh R. P., Kaur A. Utilization of fruit and vegetable processing wastes: A review. *J Food Sci Technol.* 2018;55(9):3186-202.
- 53 Melo AMDE, et al. Valorization of the agro-industrial by-products of bacupari (*Garcinia brasiliensis* (Mart.) through production of flour with bioactive properties. *Food Biosci.* 2022;45:101343.
- 54 Ribeiro T, Oliveira LA, Costa C, Nunes J, Vicente AA, Pintado M. Valorização total e sustentável do bagaço de azeitona por fracionamento. *Ciênc Aplic.* 2020;10(19):6785.
- 55 Silva EM, Souza JNS, Rogez H, Rees JF, Larondelle Y. Antioxidant Activities and Polyphenolic Contents of Fifteen Selected Plant Species from the Amazonian Region. *Food Chem.* 2009;117(1):160-165.
- 56 Camelo-Silva C., Vasconcelos J.A., Santana H.M., et al. Potential applications of *Mauritia flexuosa* (buriti) as a functional food ingredient. *J Food Sci.* 2020;85(2):666-677.
- 57 Henrichs A., Reitz M., Wagner C., et al. *Development of bioactive food ingredients from Mauritia flexuosa*: Innovations in food enrichment and supplementation. *Food Chem.* 2022;378:131042.
- 58 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário. 2018.
- 59 Coradin L, Camillo J, Vieira IMCG. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Norte. Brasília, DF: MMA; 2022
- 60 Pereira-Freire JA, Oliveira GLS, Lima LKF, Ramos CLS, Arcanjo-Medeiros SR, Lima ACS, et al. In vitro and ex vivo chemopreventive action of *Mauritia flexuosa* products. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018.
- 61 Figueredo PDMS, Mubárack TC, Silva AS, Ferreira LS, Sodré ADJS, Rocha CQ, et al. Antimicrobial phytotherapy obtained from the extract of the leaves of *Mauritia flexuosa* (buriti) (Patent No. *BR102018016091A2*). 2018.
- 62 Pereira-Freire J, Sousa M, Oliveira L, Silva A, Andrade T, Silva D. Nutritional and bioactive properties of buriti (*Mauritia flexuosa*) pulp and its potential health benefits. *J Food Sci.* 2022;87(4):1205-1217.
- 63 Amorim VR, Rodrigues DC do N, Silva JN do N, Ramos CLS, Almeida LMN, Almeida AAC, et al. Anti-inflammatory mechanisms of fruits and by-products from *Mauritia flexuosa*, an exotic plant with functional benefits. *J Toxicol Environ Health A.* 2021;84:441-57. doi: 10.1080/15287394.2021.1881672.
- 64 Aquino JS, Batista KS, Araujo-Silva G, dos Santos DC, de Brito NJN, Lopez JA, et al. Antioxidant and lipid-lowering effects of buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) administered to iron-overloaded rats. *Molecules.* 2023;28:2585. doi: 10.3390/molecules28062585.

- 65 Leão LKR, Herculano AM, Maximino C, Costa AB, Gouveia A, Batista EO, et al. *Mauritia flexuosa* L. protects against deficits in memory acquisition and oxidative stress in rat hippocampus induced by methylmercury exposure. *Nutr Neurosci.* 2017;20:297-304. doi: 10.1080/1028415X.2015.1133030.
- 66 Curimbaba SM, Costa RG, Oliveira RG, Lima AFO, Cardoso PC, Silva Filho CG. Buriti (*Mauritia flexuosa*) pulp supplementation reduces inflammatory markers in experimental colitis in rats. *Nutr Res.* 2020;70:51-60.
- 67 Tauchen J, Bortl L, Huml L, Miksatkova P, Doskocil I, Marsik P, et al. Phenolic composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants from the Peruvian Amazon. *Rev Bras Farmacogn.* 2016;26(6):728-37. doi: 10.1016/j.bjp.2016.03.016.
- 68 Miyasaka K, Takeda S, Nakamura S, Matsuda H, Shimoda H. Estrogenic and antiandrogenic activities of methoxyflavans isolated from the fruit of *Mauritia flexuosa* (Moriche Palm). *J Food Biochem.* 2021;45(1):2-11. doi: 10.1111/jfbc.13583.
- 69 Aydos LR, do Amaral LA, Jacobowski AC, de Souza RS, Parisotto EB, de Menezes MB, et al. Buriti pulp oil did not improve high-fat diet-induced metabolic disorders in c57bl/6 mice. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2021;105(2):364-75. doi: 10.1111/jpn.13473.
- 70 Aquino J, Soares J, Magnani M, Stamford T, Mascarenhas R, Tavares R, Stamford T. Effects of Dietary Brazilian Palm Oil (*Mauritia flexuosa* L.) on Cholesterol Profile and Vitamin A and E Status of Rats. *Molecules.* 2015;20(5):9054-70. doi: 10.3390/molecules20059054.
- 71 Lage NN, Lopes JMM, Pereira RR, Da Costa Guerra JF, Pereira MFA, Silva M, et al. Antioxidant potential of Buriti (*Mauritia flexuosa*) pulp oil in diabetic rats. *Arch Latinoam Nutr.* 2018;68(1).
- 72 Barbosa MU, Silva MDA, Barros EML, Barbosa MU, Sousa RC, Lopes MADC, et al. Topical action of buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) in myositis induced in rats. *Acta Cir Bras.* 2017;32:956-63. doi: 10.1590/s0102-865020170110000007.
- 73 Melo PS, Martins HC, Falcão MS, Trevisan M, Portaro FCV, Silva LG, Sano-Martins IS, Gonçalves LRC, Seibert CS. Effects of *Mauritia flexuosa* L. f. buriti oil on symptoms induced by Bothrops moojeni snake envenomation. *J Ethnopharmacol.* 2023;313:116612. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116612>
- 74 Rodrigues MF, Silva JW, Lima JS, Ramos BA, Paz ST, Lomonaco D, Zampieri D, Ximenes RM. Antiulcer activity of *Mauritia flexuosa* L.F. (Areaceae) pulp oil: An edible Amazonian species with functional properties. *Fitoterapia.* 2024;174:105857. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105857>
- 75 Becker FS, Damiani C, de Melo AAM, Borges PRS, de Barros Vilas Boas EV. Incorporation of Buriti Endocarp Flour in Gluten-free Whole Cookies as Potential Source of Dietary Fiber. *Plant Foods Hum Nutr.* 2014;69(4):344-50. doi: 10.1007/s11130-014-0440-y.

- 76 Moser P, Ferreira S, Nicoletti VR. Buriti oil microencapsulation in chickpea protein-pectin matrix as affected by spray drying parameters. *Food Bioprod Process.* 2019;117:183-93. doi: 10.1016/j.fbp.2019.07.009.
- 77 Ribeiro RO, Vissotto FZ, Pena MA, et al. Microencapsulation of Buriti Oil by Spray Drying: Oxidative Stability during Storage and Application in Food Products. *J Food Process Preserv.* 2020;44(11)
- 78 Aquino JS, Ribeiro A, Ramos CP, Costa JM, Pinheiro AC, Silva FO. Desenvolvimento e avaliação sensorial de biscoitos enriquecidos com óleo de buriti. *Rev Bras Frutic.* 2012;34(1):308-14.
- 79 Anjos HA, et al. Gelatin-based films incorporated with buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) as active packaging for preserving artisanal cheeses. *Bioresour Technol Rep.* 2023. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101526>.
- 80 Braga-Souto RN, Teixeira MG, Borges LA, Oliveira MLP, Soares JF, Paiva CL, Lima JP. Improvement of sensorial and technological characteristics of chocolate cakes with buriti fruit by-product. *J Food Process Preserv.* 2022. Available from: <https://doi.org/10.1111/jfpp.16557>.
- 81 ONU BR – NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL – ONU BR. *A Agenda 2030.* 2015. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>>
- 82 Silva NRRN, Cavalcanti RBM, Silva FA. Nutritional properties of Buriti (*Mauritia flexuosa*) and health benefits. *J Food Compos Anal.* 2023;117:105092.
- 83 Barboza NL, Cruz JMAC, Corrêa RF, Lamarão CV, Lima AR, Inada NM, Sanches EA, Bezerra JA, Campelo PH. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.): An Amazonian fruit with potential health benefits. *Food Res Int.* 2022;159:111487. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111654>
- 82 CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (Ed.). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste.* Brasília, DF: MMA, 2018.
- 83 Rudke, A.R., Mazzutti, S., Andrade, K.S., Vitali, L., Ferreira, S.R.S., 2019. Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. *Food Chem.* 298, 125061.
- 84 Storck, C.R.; Lorenzoni, N.G.; Bordin, O.B.; Basso, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações *Ciência Rural*, v. 43, n. 3, p. 537-543, 2013.

ANEXOS



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A0E5140

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A0E5140**
 Usuário: **Universidade Federal do Piauí**
 CPF/CNPJ: **06.517.387/0001-34**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie

Mauritia flexuosa

Título da Atividade: **Potencial biotecnológico da fração insaponificável do epicarpo do buriti (Mauritia flexuosa): estudo in silico, in vitro e in vivo.**

Equipe

Stella Regina Arcanjo Medeiros	Universidade Federal do Piauí
Jollane Alves Pereira Freire	Universidade Federal do Piauí
Lorrane Ribeiro de Mesquita	Universidade Federal do Piauí
Sabrina Almondes Teixeira	Universidade Federal do Piauí
Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa	Universidade Federal do Piauí
Flavia Vitoria Pereira de Moura	Universidade Federal do Piauí

Data do Cadastro: **01/04/2024 20:30:13**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **20:32** de **01/04/2024**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PIAUÍ - CAMPUS SENADOR
HELVÍDIO NUNES DE BARROS
- UFPI



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ACEITABILIDADE SENSORIAL DO AZEITE DE OLIVA ENRIQUECIDO COM FRAÇÕES INSAPONIFICÁVEIS DO EPICARPO DE BURITI - FIEB (Mauritia)

Pesquisador: Stella Regina Arcanjo Medeiros

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 75266923.8.0000.8057

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.626.730

Apresentação do Projeto:

Há uma crescente demanda por alimentos que proporcionem algum benefício à saúde aliado a processos tecnológicos e sustentáveis, com a proposta de aproveitando integral do alimento para aumentar a oferta de produtos alimentícios com menor impacto ambiental e que ampliem a qualidade de vida do consumidor.

Deste modo o objetivo dessa pesquisa será analisar a aceitabilidade sensorial do azeite de oliva enriquecido com insaponificáveis do epicarpo do buriti (Mauritia flexuosa L.). O desenho do estudo refere-se a uma pesquisa de caráter quantitativo para analisar a aceitabilidade sensorial de azeite de oliva enriquecido com insaponificáveis do epicarpo do buriti (Mauritia flexuosa). Será realizada no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos da Universidade Federal do Piauí/UFPI, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros – CSHNB. O painel sensorial será composto por uma equipe de 100 avaliadores

não treinados, de ambos os sexos e com idade entre 18 e 60 anos após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Serão avaliadas aceitação global e aceitação dos atributos aparência, aroma, sabor e textura, empregando-se uma escala hedônica estruturada de 9 pontos, variando entre "desgostei muitíssimo" até "gostei muitíssimo". Na mesma ficha será incluída uma escala para avaliar a atitude do consumidor numa situação hipotética de compra do produto.

Endereço: Rua Cleonir Duarte, N°905, (do lado da biblioteca e da caixa)

Bairro: JUNDÓ

CEP: 64.607-679

UF: PI

Município: PICOA

Telefone: (88)3422-3003

Fax: (88)3422-4200

E-mail: cep-picos@ufpi.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP 64600-000
PICOS- PI- BRASIL

Pesquisador Responsável: Stella Regina Arcanjo Medeiros

Equipe de pesquisa: Joilane Alves Pereira-Freire, Marcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa, Gidelania da Silva Carvalho, Sabrina Maria de Moura Silva

Instituição / Departamento: Coordenação do Curso de Graduação Bacharelado em Nutrição do Campus Senador Helvídio Nunes de Barros (CSHNB). Endereço: Rua Cícero Duarte nº 905; Bairro: Junco; CEP: 64600-000; Picos- PI.

E-mail do pesquisador responsável: stellaarcanjo@ufpi.edu.br. **Telefones para contato:** (89) 3422-4389 / (89) 3422-1008 (UFPI). (85) 992240173

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a), você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “Aceitabilidade sensorial do azeite de oliva enriquecido com frações insaponificáveis do epicarpo de buriti - FIEB (*Mauritia flexuosa*)”, que tem por objetivo analisar a aceitabilidade sensorial do azeite de oliva enriquecido com frações insaponificáveis do epicarpo do buriti.

Sua participação nesse projeto é voluntária e consiste no preenchimento de dois questionários impressos. A pesquisa dura em torno de 10 a 15 minutos e você pode recusar-se a participar ou interromper o preenchimento a qualquer momento, sem penalidades. Caso você concorde em participar, a pesquisa será realizada de forma presencial por meio da aplicação de dois questionários. O primeiro questionário contém perguntas com alternativas para selecionar os avaliadores que irão participar da análise sensorial. O segundo questionário apresentará perguntas para avaliar a aceitação e preferência dos produtos elaborados, composto por três testes sensoriais. Não será necessário identificar o nome do participante garantindo assim a sua privacidade. Você não terá despesas ou danos em decorrência de sua participação, apenas disponibilizar parte de seu tempo no preenchimento do questionário.

Esclareço que a presente pesquisa apresenta risco potencial aos participantes, pois os mesmos poderão durante a realização da análise sensorial apresentar reações alérgicas (reações de hipersensibilidade), que se caracterizam por serem respostas inadequadas do sistema imunológico a uma substância que normalmente é inofensiva. Geralmente, as alergias causam espirros, olhos lacrimejantes e pruriginosos, coriza, coceira na pele e erupção cutânea. Assim, afim de evitá-los ou minimizar a ocorrência de tais riscos, será

aplicado um questionário como forma de triagem inicial para a coleta de dados do avaliador, principalmente para exclusão daqueles com hipersensibilidades, alergias e/ou intolerâncias a algum alimento e/ou ingrediente utilizado nas formulações.

Além disso, para a assistência à saúde em caso de algum avaliador apresentar evento adverso, mesmo após o processo de triagem, o avaliador será conduzido ao Hospital Regional Justino Luz, em carro próprio, situado a 4,6 quilômetros da UFPI, para que seja realizado o atendimento médico. É oportuno destacar que todos os custos decorrentes do transporte e tratamento médico ficarão sob a responsabilidade da professora responsável pela pesquisa.

Considera-se também a possibilidade de um risco psicológico subjetivo, uma vez que ao responder o questionário lembranças podem ser despertadas, ou seja, algumas perguntas podem apresentar desconforto ou constrangimento, evocar sentimentos ou lembranças desagradáveis, ou até mesmo levar a um leve cansaço, fazendo com que o (a) participante opte pela suspensão imediata da sua participação. Para minimizar tais riscos, os dados serão coletados por meio de questionários simples e rápidos, será garantido o total sigilo e confidencialidade das informações coletadas, bem como o (a) participante pode a qualquer momento desistir da pesquisa, caso sintá-se desconfortável.

Existe risco de transmissão da Covid-19 pelo fato da pesquisa ser realizada de forma presencial, contudo, este risco será minimizado ou quase nulo devido ao fato de que será respeitado o distanciamento social entre os participantes e também será necessário o uso de máscaras e álcool a 70%. Também existe a possibilidade de o (a) participante sentir-se desconfortável durante e/ou após a realização da análise sensorial. Contudo, a equipe da pesquisa estará preparada para solucionar tal risco, com a condução do (a) participante ao Hospital Regional Justino Luz, em carro próprio, situado a 4,6 quilômetros da UFPI, para que seja realizado o seu atendimento médico. Além disso, todos os custos decorrentes do transporte e tratamento médico ficarão sob a responsabilidade da professora responsável pela pesquisa.

A proposta do trabalho traz como benefícios a contribuição com a pesquisa científica, pois planeja-se avaliar um novo produto alimentício ricos em nutrientes e compostos bioativos, com destaque para os fitosteróis. Os dados coletados servirão como suporte para a elaboração de futuras intervenções com o produto formulado. Os resultados obtidos poderão ser utilizados posteriormente para fins acadêmico-científicos, através do planejamento e desenvolvimento de novos estudos. Para participar deste estudo, você não terá nenhum custo, e caso haja por qualquer motivo, asseguramos que você será devidamente ressarcido. Não haverá nenhum tipo de pagamento por sua participação, ela é voluntária. Assim, não haverá benefícios diretos aos participantes da pesquisa. O participante de pesquisa terá direito à indenização em caso de danos decorrentes do estudo.

Os questionários respondidos ficarão armazenados em envelopes lacrados na Coordenação de Nutrição da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros localizado na Rua Cícero Duarte, N°905, bairro Junco, CEP: 64.607-670. As informações extraídas dos questionários somente poderão ser divulgadas de forma anônima e serão mantidas em uma planilha no programa de computador Microsoft® Excel. Os questionários impressos e a planilha com os dados serão armazenados por um período de 5 anos sob a responsabilidade da pesquisadora responsável, a Dra. Stella Regina Arcanjo Medeiros. Após este período, os questionários serão queimados e a planilha com os dados excluída do computador.

O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pela pesquisadora responsável e a outra será fornecida a você. Informamos ainda que a qualquer momento você pode entrar em contato conosco para sanar suas dúvidas.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo “Aceitabilidade sensorial do azeite de oliva enriquecido com frações insaponificáveis do epicarpo de buriti - FIEB (*Mauritia flexuosa*)”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma via do TCLE e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Picos, 12 de outubro de 2023

Stella Regina Arcanjo Medeiros

Dra Stella Regina Arcanjo Medeiros (CPF:429.992.353 -72)

Joilane Alves Pereira Freire

DRª JOILANE ALVES P. FREIRE
NUTRICIONISTA CRN: 8402
SIAPE / UFPI: 1670565

Dra Joilane Alves Pereira-Freire (CPF: 839.471.083 -20)

Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa

Me. Márcia Luiza dos Santos Beserra Pessoa (CPF: 657.188.103 -04)

Sabrina Maria de Moura Silva

Sabrina Maria de Moura Silva (CPF: 090.522.283 -02)

Gildelânia da Silva Carvalho

Gildelania da Silva Carvalho (CPF: 050.656.103-80)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros. Este Comitê é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas que envolvam a participação de seres humanos. Também visa assegurar os direitos e a dignidade dos participantes das pesquisas, contribuindo para a sua qualidade, além do desenvolvimento social da comunidade.

Endereço do CEP:

Universidade Federal do Piauí - Campus Senador Helvídio Nunes de Barros (CSHNB)
Rua Cicero Duarte, N°905, Bairro: Junco, CEP: 64.607-670, Cidade: Picos-PI
E-mail: cep-picos@ufpi.edu.br, Telefone: (89) 3422-3003

Horário de atendimento: De segunda a sexta-feira das 08h00 às 12h00 e