



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS – DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Vitória Giovanna da Silva Ramalhão

**Desenvolvimento de metodologias sustentáveis e biomiméticas para extração
dos compostos polifenólicos de *Passiflora edulis* Sims.**

**Bauru
2022**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS – DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Vitória Giovanna da Silva Ramalhão

**Desenvolvimento de metodologias sustentáveis e biomiméticas para extração
dos compostos polifenólicos de *Passiflora edulis* Sims.**

Trabalho de conclusão de Curso
apresentado à Universidade Estadual Paulista
(UNESP), como parte das exigências para a
obtenção do título de bacharel em Ciência
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Rinaldo

Bauru

2022

R165d

Ramalhão, Vitória Giovanna da Silva

Desenvolvimento de metodologias sustentáveis e biomiméticas para extração dos compostos polifenólicos de *Passiflora edulis* Sims. / Vitória Giovanna da Silva
Ramalhão. -- Bauru, 2022

35 p. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (-) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências, Bauru
Orientador: Daniel Rinaldo

1. Sustentabilidade. 2. Química Verde. 3. Plantas Medicinais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências, Bauru. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Vitória Giovanna da Silva Ramalhão

**Desenvolvimento de metodologias sustentáveis e biomiméticas para extração
dos compostos polifenólicos de *Passiflora edulis* Sims.**

Trabalho de conclusão de Curso
apresentado à Universidade Estadual Paulista
(UNESP), como parte das exigências para a
obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Rinaldo

Aprovado em: 21 de março de 2022.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Daniel Rinaldo – UNESP Bauru

Profa. Dra. Inês Cechin – UNESP Bauru

Dr. Régis Augusto Pescinelli – UNESP Bauru

Formatado: Português (Brasil)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço imensamente à minha mãe Keli e ao meu avô José por acreditarem em mim e por todo suporte, financeiro e emocional, que me deram durante esta caminhada. Também agradeço ao meu padrasto Max, a minha irmã Valentina, minhas tias Chrystinie, Cassia e Miriam e também minhas avós Lourdes e Josefina pelo apoio.

Gostaria de agradecer especialmente a Vitória e Isadora, que sempre estiveram comigo em todas as situações possíveis, nos meus altos e baixos, por acreditarem em mim, me reerguerem, apoiarem e não me deixarem desistir.

Agradeço também ao meu orientador Dr. Daniel Rinaldo pela oportunidade de participar do GREENSEP, por todo ensinamento, compreensão, prontidão, apoio e confiança durante o desenvolvimento da pesquisa, além de toda calma e leveza em frente à desafios e momentos de pressão. Agradeço ao pessoal do laboratório, principalmente ao Otávio, que sempre acreditou mais em mim do que eu mesma, e a Rhayssa, pela companhia, conversas e ajuda.

Agradeço à Unesp e CNPq por me proporcionarem a oportunidade de desenvolver essa pesquisa durante a iniciação científica.

Gostaria de agradecer aos amigos de São Paulo: Kall, Thiago, Felipe, Maristela e Sandra por me acolherem tão bem longe de casa e por estarem comigo durante esta caminhada mesmo que à 400 km de distância. Também gostaria de agradecer àqueles que a biologia me deu: Rodrigo, Gabrielly, Louis, Nadia e Helena por serem minha família em outra cidade e por me acompanharem na jornada universitária, proporcionando memórias inesquecíveis.

"Milagres só acontecem com as pessoas que não desistem."

- Emporio Ivankov

RESUMO

O presente estudo propôs uma nova metodologia ambientalmente amigável, baseados em solventes eutéticos naturais (NADES) alinhados a eficiência da irradiação por microondas, para a extração de compostos polifenólicos presentes nas folhas do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims). Esta planta está incluída na Farmacopéia Brasileira e é utilizada na medicina tradicional para tratamento de insônia, depressão, ansiedade, e outros, por possuir compostos de ação sedativa, calmante e antiinflamatória. Inicialmente, três extratos foram preparados seguindo metodologias eficientes publicadas em periódicos de seletivo corpo editorial, sendo escolhida a extração assistida por ultrassom (UAE), com MeOH/H₂O (1:1, v/v), como método de referência. Os extratos foram analisados por CLAE-DAD para comparação quali e quantitativa. Para o desenvolvimento do método verde de extração, foi utilizada irradiação assistida por micro-ondas (MAE), utilizando 7 NADES diferentes. O NADES baseado em cloreto de colina:ácido láctico (1:2) foi o que apresentou melhor eficiência extratora quando comparado com o método de referência e com os outros 6 NADES avaliados. Levando em consideração que os NADES são compostos por substâncias de baixa toxicidade e biodegradáveis e que a MAE é uma técnica de extração rápida, eficiente e de baixo consumo energético, o método desenvolvido neste estudo contempla os princípios da Química Verde, podendo ser classificado como um método verde.

Palavras-chave: Sustentabilidade. Química Verde. Plantas Medicinais.

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

ABSTRACT

This present study proposed a new environmentally friendly methodology, based on natural deep eutectic solvents (NADES) combined with the efficiency of microwave irradiation, made for the extraction of flavonoids of the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). This plant partakes in Brazilian Pharmacopeia is used in folk medicine to treat insomnia, depression, anxiety, and other symptoms, mainly due to its compounds with sedative and calming action. Initially, were prepared three extracts following efficient methodologies, reported in journals with selective editorial boards, where the ultrasound-assisted extraction (UAE) using MeOH: H₂O 1:1 (v/v) was chosen as reference extract. In developing the green extraction method, microwave-assisted irradiation was used, using seven different NADES. The NADES based on choline chloride: lactic acid (1:1) showed the best extracting efficiency when compared with the reference method and with the other six NADES evaluated. Considering that NADES are composed of low-toxic and biodegradable substances and that microwave-assisted extraction (MAE) is a fast, efficient, and low-energy extraction technique, the method developed in this study contemplates the principles of Green Chemistry and is possibly a green method.

Key-words: Sustainability. Green Chemistry. Medicinal Plants.

Comentado [DR1]: Atualizar de acordo com o resumo em português corrigido

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Flor e frutos de Maracujá-Azedo nas variedades de cor roxa e amarela .	15
Figura 2 – Flor coletada para confecção da exsicata.....	19
Figura 3 - Folha de <i>Passiflora edulis</i> Sims	19
Figura 4 - Flavonoides presentes no maracujá-amarelo	21
Figura 5 - NADES preparados, respectivamente: (a) Thy:Ment, (b) MA:Sor, (c) MA:Glu:Fru, (d) ChCl:Sor, (e) ChCl:Xo, (f) ChCl:Glu e (g) ChCl:LA.....	24
Figura 6 - Cromatograma obtido por HPLC-DAD e espectros UV do extrato hidometanólico das folhas de <i>Passiflora edulis</i>	25
Figura 7 - Valores obtidos da área e número total de picos. Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (n=3).....	27

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Diferentes combinações para a preparação de NADES.....	20
Tabela 2 - NADES solubilizados em 20% de H ₂ O (com exceção de Timol:Mentol) e os aspectos das misturas eutéticas.....	23
Tabela 3 - Área e número total de picos obtidos com o emprego de diferentes técnicas de extração.	26
Tabela 4 - Análise de variância <i>one-way</i> ANOVA para a extração de compostos de interesse de <i>Passiflora edulis</i> com solventes de referência. Onde SQ representa a Soma dos Quadrados, gl os Graus de Liberdade, MQ a Média Quadrática, F a Estatística F.	26
Tabela 5 - Área e número total de picos obtidos com o emprego de diferentes solventes eutéticos.....	27
Tabela 6 - Análise de variância <i>one-way</i> ANOVA para a extração de compostos de interesse de <i>Passiflora edulis</i> com solventes eutéticos naturais. Onde SQ representa a Soma dos Quadrados, gl os Graus de Liberdade, MQ a Média Quadrática, F a Estatística F.	28

LISTAS DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
C ₁₈	Fase estacionária de fase reversa do tipo Octadecilsilano
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DAD	Detector por Arranjo de Diodos
DES	<i>Deep Eutectic Solvent</i>
EtOH	Etanol
GAC	<i>Green Analytical Chemistry</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IL	<i>Ionic liquid</i>
MAE	<i>Microwave-assisted extraction</i>
MeCN	Acetonitrila
MeOH	Metanol
mV	Milivolt
NADES	Natural Deep Eutectic Solvent
PTFE	Politetrafluoroetileno
TFA	Ácido trifluoroacético
UAE	<i>Ultrasound-assisted extraction</i>
UV	Ultravioleta
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.2 O Maracujá-Amarelo	14
1.2 A Química Verde como aliada no estudo da biodiversidade.....	15
2 OBJETIVO	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 Material Vegetal	18
3.2 Preparação dos solventes eutéticos naturais (NADES).....	20
3.3 Extração dos metabólitos de <i>Passiflora edulis</i>	21
3.4 Análises por CLAE-DAD	22
3.5 Análises estatísticas.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Preparação dos solventes eutéticos naturais (NADES).....	23
4.2. Avaliação dos extratos de referência	24
4.3. Análise exploratória da extração utilizando NADES	27
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

As plantas fazem parte da história da humanidade, que contou com elas para satisfazer suas necessidades básicas, como na construção de abrigos, na produção de alimentos e de roupas, além do uso como agentes terapêuticos na medicina tradicional (GURIB-FAKIM, 2006). As primeiras descrições de uso de plantas na medicina remontam aos tempos antigos, aparecendo em registros na bíblia e nos papiros de Ebers, no Egito Antigo, além de também possuir registros de plantas, como camomila e álamo, utilizadas por neandertais no sítio de *El Sídrón*, na Espanha (PINTO et al., 2002; RIO GRANDE DO SUL, 2018).

Estima-se que 25% dos medicamentos utilizados atualmente sejam derivados de plantas superiores (CALIXTO, 2000). Apesar dos avanços das pesquisas químicas e farmacêuticas durante o século XIX possibilitarem a produção de medicamentos através do isolamento de compostos ativos de plantas e aumentarem a oferta de medicamentos alopáticos, o uso de plantas medicinais dentro do conceito de *medicina tradicional* tem sido observado fortemente em países em desenvolvimento até os dias de hoje (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019) isso porque, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2019), estima-se que 75-90% da população mundial não tenha acesso ao atendimento primário de saúde, fazendo com que o uso de práticas alternativas seja seu único recurso. No Brasil, a Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos foi criada em 2006 como parte das Políticas Integrativas e Complementares (PICS) do Sistema Único de Saúde (SUS), promove e reconhece as práticas populares e tem como uma das propostas ampliar opções terapêuticas, visando oferecer a garantia de acesso a plantas medicinais e fitoterápicos com mais segurança e eficácia (BRASIL, 2006).

As plantas medicinais estão distribuídas globalmente, mas possuindo uma concentração maior em países de florestas tropicais (GURIB-FAKIM, 2006). O Brasil possui 22% da biodiversidade global de vegetais, com um alto índice de endemismo e diversos exemplos de plantas medicinais, porém, a maioria daquelas comercializadas e utilizadas no Brasil são introduzidas, sendo as endêmicas pouco conhecidas pela população (GURIB-FAKIM, 2006; PINTO et al., 2002). Dentre as espécies nativas brasileiras estudadas e contempladas dentro da Relação de Nacional de Plantas Medici-

nais de Interesse do Sistema Único de Saúde (RENISUS), estão presentes três espécies de maracujá (*Passiflora* sp.), destacando-se o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims), uma das espécies mais utilizadas para alimentação.

1.2 O Maracujá-Amarelo

As espécies do gênero, da família Passifloraceae, são utilizadas como opção terapêutica desde o século XVII e empregadas na medicina tradicional desde 1867 devido à sua ação calmante em casos de insônia e irritabilidade (PEREIRA; VILEGAS, 2000). Dentre as mais de 400 espécies que compõem o gênero (ZIBADI; WATSON, 2004), cerca de 90% são encontradas em regiões tropicais e subtropicais, e o Brasil segue como o principal centro de diversidade, visto que aproximadamente 140 espécies estão presentes em seu território (BERNACCI et al., 2015).

Apenas 30 das espécies do gênero *Passiflora* são descritas possuindo frutos comestíveis, a exemplo do chamado “maracujá”, e poucas alcançaram algum valor comercial (PEREIRA; VILEGAS, 2000), destacando-se a espécie de maracujá-azedo *Passiflora edulis* Sims., de casca roxa e seu mutante de casca amarela. No Brasil, a espécie de maracujá-amarelo assumiu um papel de destaque na fruticultura, representa a maior parcela cultivada e comercializada das espécies do gênero, devido à qualidade de seus frutos (ZERAIK et al., 2010), estando também presente na 5ª edição da Farmacopéia Brasileira.

As plantas do gênero são caracterizadas como trepadeiras herbáceas ou lenhosas, sendo o maracujá-amarelo uma planta trepadeira sublenhosa, com flores hermafroditas e presentes isoladas ou aos pares nas axilas foliares; os frutos são grandes e amarelos (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; SIQUEIRA et al., 2006). Ambos estão presentes na Figura 1. Este gênero reúne em sua constituição metabólitos secundários como flavonóides, alcalóides, fenóis, glicosídeos cianogênicos e terpenóides (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004). Alguns desses compostos estão diretamente vinculados às propriedades terapêuticas das plantas do gênero: flavonoides e alcaloides, por exemplo, que são os responsáveis pelas ações sedativas, calmantes e anti-inflamatórias, além de propriedades antioxidantes (PEREIRA; VILEGAS, 2000).



Figura 1 - Flor e frutos de Maracujá-Azedo nas variedades de cor roxa e amarela
Fonte: HE et al. (2020)

Dentre as partes do vegetal utilizado de forma terapêutica destaca-se as folhas, sobretudo nas mais jovens, pode-se encontrar como metabólitos secundários flavonas C-glicosiladas (Figura 2) derivadas da apigenina e luteolina (como orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina e outros), flavonóis e antocianinas. Os frutos além de possuírem de compostos polifenólicos de interesse, também apresentarem um alto valor nutricional e vitamínico, sendo rico em polissacarídeos e fibras e uma boa fonte de pectina (ZIBADI; WATSON, 2004; DHAWAN; DHAWAN.; SHARMA, 2004; HE et al., 2020).

1.2 A Química Verde como aliada no estudo da biodiversidade

Para extração metabólitos secundários de interesse, histórica e majoritariamente são empregados solventes orgânicos voláteis e solventes alcoólicos, comumente utilizados nas etapas de extração de, por exemplo, flavonoides (SPAGNOLLA et al., 2009), os quais podem ser caros, tóxicos e poluentes. Nas últimas décadas, surgiram na literatura solventes alternativos mais baratos e seguros, como os DES (*Deep Eutectic Solvents*), cujo impacto ambiental é reduzido se comparado com solventes alcoólicos, por exemplo (BI et al., 2013).

Introduzidos por Abbott e colaboradores (2003), os DES são caracterizados como misturas eutéticas de 2 ou mais substâncias ou componentes primários em razões molares específicas (ABBOTT et al., 2003). Em tais misturas, uma das substâncias atuará como doadora de ligações de hidrogênio e a outra como receptora (BI et

al., 2013). As ligações de hidrogênio e os componentes primários da mistura influenciam no ponto de fusão da mistura, que conseqüentemente será menor que as dos constituintes separados (GOMEZ et al., 2018). Porém, a produção de DES pode empregar componentes sintéticos que são muitas vezes tóxicos, o que limita sua aplicação na indústria farmacêutica e alimentícia (GOMEZ et al., 2018; FERNANDEZ et al., 2018).

Em 2011, emerge uma alternativa como subclasse de DES, os NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*, CHOI et al., 2011; GOMEZ et al., 2018). Os NADES são obtidos através de compostos naturais, como açúcares, ácidos orgânicos, uréia e derivados de cloreto de colina. Apresentando-se como bons extratores (e até melhores em comparação com certos solventes orgânicos em certas situações) e representando os princípios da química verde, os NADES são, além dos solventes mais baratos, a alternativa mais “verde” frente aos solventes orgânicos (FERNANDEZ et al., 2018; PACHECO-FERNANDEZ; PINO, 2019).

Considerando que os NADES também justificam a presença de macromoléculas pouco solúveis em água no meio intracelular e, devido à maior solubilidade que apresentam para metabólitos em relação aos meios aquosos, podem ser empregados como meios extratores de compostos de interesse (CHOI et al., 2011). É possível afirmar que o emprego de NADES como meios extratores sustentáveis simula as células de organismos e, portanto, emprega princípios da biomimética.

O uso de NADES é muito interessante do ponto de vista acadêmico e industrial considerando que o gasto majoritário em processos envolvendo estudos metabolômicos envolve o volume de solventes empregados (DAI et al., 2013; ESPINO et al., 2015; FUNARI et al., 2014a,b; FUNARI et al., 2016). Nesse contexto, o emprego de alternativas ambientalmente amigáveis, seguras e baratas como os NADES como solventes extratores em estudos metabolômicos e de controle de qualidade é especificamente interessante para plantas medicinais características da biodiversidade de países em desenvolvimento, a respeito do Brasil, uma vez que permite o estudo da diversidade micromolecular de tais opções terapêuticas sem danos cumulativos aos ecossistemas e de modo viável até mesmo para pequenos laboratórios ou regiões ecologicamente sensíveis e onde o tratamento de resíduos é elevado (DAI et al., 2013; ESPINO et al.,

2015; FUNARI et al., 2014b; RADOĆŠEVIĆ et al., 2016). Além disso, isso é absolutamente coerente com os interesses atuais de agências como a Organização das Nações Unidas, a qual possui um plano de ação denominado Agenda de Desenvolvimento Sustentável para 2030, o qual objetiva a disseminação de práticas inofensivas ao meio ambiente que possibilitem de modo macroestrutural o equilíbrio social, econômico e ambiental ao redor do globo, com base em pilares como a bioeconomia, isto é, o uso de materiais renováveis no desenvolvimento de materiais e fontes energéticas (MCCORMICK; KAUTTO, 2013; UNITED NATIONS, 2015). Coerentemente, o emprego de NADES como meio extrator se alinha com os princípios da Química Analítica Verde (DAI et al., 2013; ESPINO et al., 2015; RADOĆŠEVIĆ et al., 2016).

A Química Analítica Verde (*Green Analytical Chemistry*, ou GAC) suscita da necessidade de tornar os processos analíticos sustentáveis e seguros. Derivada da Química Verde, a GAC visa a implementação de técnicas da química verde nas práticas laboratoriais, abordagens mais eficazes na redução de danos e com eficiência comparável a técnicas tradicionais (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI, NAMIEŚNIK; 2013; FUNARI et al, 2016). Nesse contexto, Galuszka e colaboradores (2013) formulam 12 princípios para a GAC, sendo eles:

1. Técnicas analíticas devem ser diretamente aplicadas, buscando evitar o tratamento de amostras.
2. São objetivos minimizar o tamanho e quantidade de amostras utilizadas.
3. Realização de medidas *in situ*.
4. A integração entre processos analíticos e operacionais economizam energia e reduzem o uso de reagentes.
5. Selecionar métodos automatizados e miniaturizados.
6. Evitar derivação.
7. Deve-se evitar a geração exagerada de resíduos, providenciando também métodos de tratamento dos mesmos.
8. Priorizar métodos multiparamétricos e que utilizem diversos analitos ao invés daqueles que utilizam um de cada vez.

9. Uso de energia minimizada.
10. Priorizar reagentes obtidos de fontes renováveis.
11. Reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos.
12. Deve-se prover meios para que a segurança do operador seja melhorada.

Tais princípios indicam que, ainda que o maior impacto do ponto de vista ambiental se relaciona aos solventes empregados, apenas empregar solventes alternativos não é suficiente para tornar a investigação ambientalmente segura e sustentável. Todo o processo analítico deve ser considerado para garantir a sustentabilidade. Assim, o emprego de meios extratores como os NADES, aliados a técnicas extratoras mais novas e mais eficientes do que as tradicionais - a exemplo de extrações assistidas a microondas (WANG et al., 2016) - abordagens multiparamétricas que otimizem de modo global as extrações com economia de tempo e recursos, como Planejamento de Experimentos (WEI et al., 2015; PILON et al., 2016), e métricas apropriadas que quantifiquem o impacto ambiental das metodologias empregadas (GABER et al., 2011) - são interessantes para se obter processos realmente alinhados com a preservação do meio ambiente, o uso eficiente de recursos e que simultaneamente satisfaçam as demandas da sociedade.

2 OBJETIVO

Desenvolver um método verde e eficiente para extração de compostos, relacionados como responsáveis pelas atividades farmacológicas presentes nas folhas de *Pasiflora edulis* Sims.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Síntese Orgânica e Processos (LSOP) da Faculdade de Ciências da UNESP, no campus de Bauru.

3.1 Material Vegetal

O material vegetal foi coletado no dia 23 de março de 2021, nas proximidades do Laboratório de Química Analítica e Cromatografia, da Unesp do Campus de Bauru (coordenadas 22° 20' 38.188" S 49° 1' 46.144" W). Foram preparadas exsiccatas para

identificação no Herbário UNBA da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista (Unesp) do Campus de Bauru.

As flores características da espécie possuem pétalas e sépalas na cor branca e de cor purpura na base (Figura 2). As folhas são simples, alternas e trilobadas (Figura 3); as margens das folhas são serrilhadas, com a base cordada e o ápice acumulado; o tamanho pode variar entre 7 a 12 cm para o comprimento por 11 a 13 cm na largura (BERALDO; KATO, 2010).



Figura 2 – Flor coletada para confecção da exsicata
Fonte: Arquivo Pessoal



Figura 3 - Folha de *Passiflora edulis* Sims
Fonte: Sheldon Navie (2016)¹

¹ Disponível em: <https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/passiflora_edulis.htm>

Após a coleta e separação, a secagem foi feita através da liofilização das folhas, que permaneceram no liofilizador por 7 dias, sendo, posteriormente, pulverizadas em um moinho industrial (LB Balanças, Brazil). O material resultante foi colocado em um frasco para proteger contra umidade e calor.

3.2 Preparação dos solventes eutéticos naturais (NADES)

Foram propostas 9 combinações de diferentes compostos primários em proporções de razões molares variadas (ver Tabela 1) para serem avaliados quanto a formação de misturas eutéticas. As combinações foram sintetizadas seguindo a metodologia de Gomez e colaboradores (2018), sendo solubilizados em 20% de H₂O m/m, com exceção da combinação de Timol e Mentol, pois trata-se de uma mistura hidrofóbica.

Tabela 1 - Diferentes combinações para a preparação de NADES

COMPONENTE 1	COMPONENTE 2	COMPONENTE 3	RAZÃO MOLAR
Timol	Mentol		1:1
Ácido málico	Sorbitol		1:1
Ácido málico	Glicose	Frutose	1:1:1
Ácido Lático	Sacarose		1:2
Ácido Lático	Glicose		1:2
Cloreto de colina	Sorbitol		1:2
Cloreto de colina	Xilitol		4:1
Cloreto de colina	Glicose		1:1
Cloreto de Colina	Ácido Lático		1:1

Em *vials*, as diferentes proporções foram irradiadas em um digestor microondas (*Ethos Easy*®) individualmente com ciclos de 5 min, em temperaturas que variam entre 40° e 60°C. Cada ciclo individual foi repetido até que as misturas se apresentassem de forma transparente, homogênea e uniforme. Após a irradiação, esperou-se cerca de 5 dias para a constatação de formação ou não de misturas eutéticas.

3.3 Extração dos metabólitos de *Passiflora edulis*

3.3.1 Reprodução de extrações para referência

Através de um levantamento bibliográfico, foram selecionados diferentes métodos convencionais para a extração dos marcadores do maracujá-amarelo (Figura 3) a serem replicados com a finalidade de compará-los com os NADES quanto a eficiência da extração.

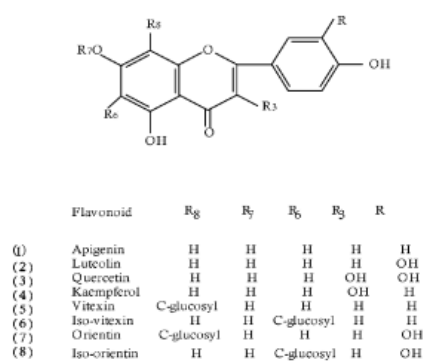


Figura 4 - Flavonoides presentes no maracujá-amarelo
Fonte: DHAWAN, DHAWAN, SHARMA (2004)

A primeira é uma replicação da extração assistida por ultrassom (UAE) presente no trabalho de Ferreres e colaboradores (2007), utilizando 100 mg do material vegetal pulverizado em uma solução 2 ml MeOH:H₂O(1:1).

Em seguida, foram realizadas duas extrações hidroetanólicas. Na primeira, 20 mg do material vegetal foi colocado em uma seringa adaptada para percolação em pequena escala, utilizando 3 ml de uma solução EtOH:H₂O (6:4). Na segunda, 100 mg do material em uma solução EtOH:H₂O (7:3) foram submetidos à maceração dinâmica (320 rpm; 40°C) por 30 minutos.

Posteriormente, todos os extratos foram centrifugados por dois ciclos de 5 min e um montante conhecido do sobrenadante foi retirado e filtrado em um microfiltro PTFE (0,45 µm) e transferido para *vials* e injetados no sistema CLAE-DAD.

3.3.2 Extração utilizando NADES e assistida por microondas (MAE)

Para a obtenção do gradiente exploratório, os extratos com NADES foram preparados na razão 1:10 (planta:solvente) e submetidos a irradiação por microondas durante 1h à 50°C. Posteriormente, os extratos foram diluídos na proporção 1:1 em uma solução hidroetanólica (7:3), centrifugados por dois ciclos de 5 min e um montante conhecido do sobrenadante foi retirado e filtrado em um microfiltro PTFE (0,45 µm) e transferido para um *vial* para injeção no sistema CLAE-DAD.

3.4 Análises por CLAE-DAD

As análises exploratórias tanto dos extratos quanto dos NADES foram realizadas através do sistema CLAE-DAD (Shimadzu®), (bomba LC-20AT, de gaseificador DGU-20A5R, amostrador SIL-20HT, forno de coluna CTA-10AS VP e interface CBM-20A, DAD SPD-M20A, utilizando como fase móvel H₂O com 0,1% de TFA (FASE A, aquosa) e MeCN (Fase B, orgânica). Para a obtenção do cromatograma foi utilizada uma coluna Luna C₁₈ (Phenomenex®, 250 x 4,6mm, 5µm) e para a aquisição e processamento dos dados o software LabSolutions (Shimadzu®). O monitoramento dos experimentos foi feito a λ=240 nm. Os sinais com área maiores que 400 mV·s foram considerados picos.

As amostras foram analisadas em sistema gradiente exploratório com variação de B de 5% a 100% em 60 minutos, vazão de 1 mL min⁻¹ e temperatura do forno de 30°C, método adaptado de Snyder, Kirkland e Glajch (1997).

3.5 Análises de dados

As análises estatísticas das amostras para escolha do extrato de referência e as análises preliminares entre as amostras de extrações por NADES foram feitas utilizando tabelas de *one-way* ANOVA, seguidos de comparação através do Teste *Tukey* (95% de confiabilidade), sendo feitas com a utilização do software MS Office Excel ® (2007) e R v. 4.0.3 (R Core Team, 2020). Os dados também foram analisados quanto a normalidade através do teste de *Shapiro-Wilk*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Preparação dos solventes eutéticos naturais (NADES)

Conforme apresentado na Tabela 1, foram preparadas nove combinações de compostos primários em diferentes proporções. Das nove propostas, apenas em sete foram verificadas a formação de misturas eutéticas, estando elas presentes na Tabela 2, incluindo seus aspectos. As demais, durante o tempo de espera, voltaram a se solidificar ou não apresentaram total miscibilidade entre os componentes, sendo descartadas desta avaliação.

Todas as sete misturas eutéticas se apresentaram como transparentes e incolores, com exceção daquela sintetizada a partir de Timol:Mentol (1:1) que, mesmo sendo transparente como as demais, apresentou coloração amarelada (Figura 4).

Tabela 2 - NADES solubilizados em 20% de H₂O (com exceção de Timol:Mentol) e os aspectos das misturas eutéticas.

Id	NADESS	Abreviatura	Obs
#1	Timol:Mentol (1:1)	Thy:Ment (1:1)	Amarelo, Transparente
#2	Ácido Málico:Sorbitol (1:1)	MA:Sor (1:1)	Transparente
#3	Ácido Málico:Glicose:Frutose (1:1:1)	MA:Glu:Fru (1:1:1)	Transparente
#4	Cloreto de Colina:Sorbitol (1:2)	ChCl:Sor (1:2)	Transparente
#5	Cloreto de Colina:Xilitol (4:1)	ChCl:Xo (4:1)	Transparente
#6	Cloreto de Colina:Glicose (1:1)	ChCl:Glu (1:1)	Transparente
#7	Cloreto de Colina:Ácido Lático (1:1)	ChCl:LA (1:1)	Transparente
#8	Ácido Lático: Glicose (1:2)	LA:Glu (1:2)	não formou mistura eutética
#9	Ácido Lático:Sacarose (1:2)	LA:Suc	não formou mistura eutética

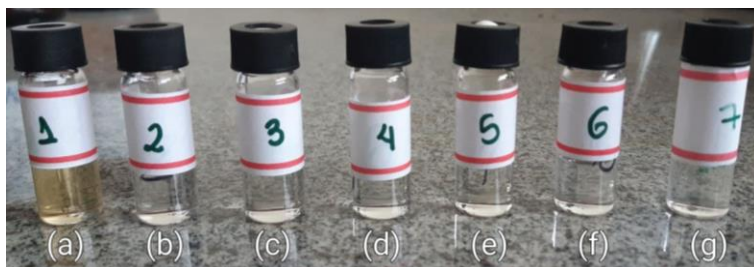


Figura 5 - NADES preparados, respectivamente: **(a)** Thy:Ment, **(b)** MA: Sor, **(c)** MA:Glu:Fru, **(d)** ChCl: Sor, **(e)** ChCl:Xo, **(f)** ChCl:Glu e **(g)** ChCl:LA
Fonte: Arquivo Pessoal.

A porcentagem de água dos NADES foi fixada em 20% (m/m) devido a relatos presentes na literatura, com exceção do NADES #1 devido ao caráter hidrofóbico. Embora a adição de água auxilie na diminuição da viscosidade (influenciada por sua composição primária) e contribui na extração de compostos polares (DAI et al., 2015; QI et al., 2015), em grandes proporções pode atuar como um “anti-solvente” ao diminuir as ligações de hidrogênio entre os compostos primários e a água, resultando na dissolução dos componentes ao invés da formação de uma mistura eutética (DAI et al., 2015; QI et al., 2015; GÓMEZ et al., 2018).

Tanto os NADESs de ‘Thy:Mentol’ (1:1) quanto ‘ChCl:LA’ (1:1) não precisaram de irradiação no microondas, formando uma mistura homogênea em poucos minutos após o contato entre os compostos primários. Tal evento pode ser relacionado com a interação entre os compostos na formação de pontes de hidrogênio. Em relação ao NADES #7, é importante apontar para a alta higroscopia do Cloreto de Colina como um fator importante em sua miscibilidade com os dois outros compostos da mistura, que são líquidos. Enquanto para o NADES #1, a relação com o menor tempo é devida se tratar de um NADES hidrofóbico (hNADES), sendo uma das principais características a preparação em condições amenas de temperatura (DWAMENA, 2019).

4.2. Avaliação dos extratos de referência

Após a análise exploratória por CLAE-DAD (condições descritas na seção 3.4), foi possível observar que os espectros UV referentes às bandas cromatográficas dos compostos presentes no extrato hidrometanólico das folhas de *P. edulis* (Figura 5) são característicos de flavonóides, mais especificamente flavonas, em que a banda I de

absorção (310-350 nm) apresenta absorbância maior que a banda II (250-280 nm) (MARKHAN, 1982).

Após a identificação dos compostos-alvo, foi realizada a avaliação do rendimento de diferentes extrações. Como resposta, foi utilizado a somatória das áreas de 8 bandas cromatográficas majoritárias do perfil cromatográfico (Figura 5), sendo desejável o maior valor da soma das áreas (Tabela 3).

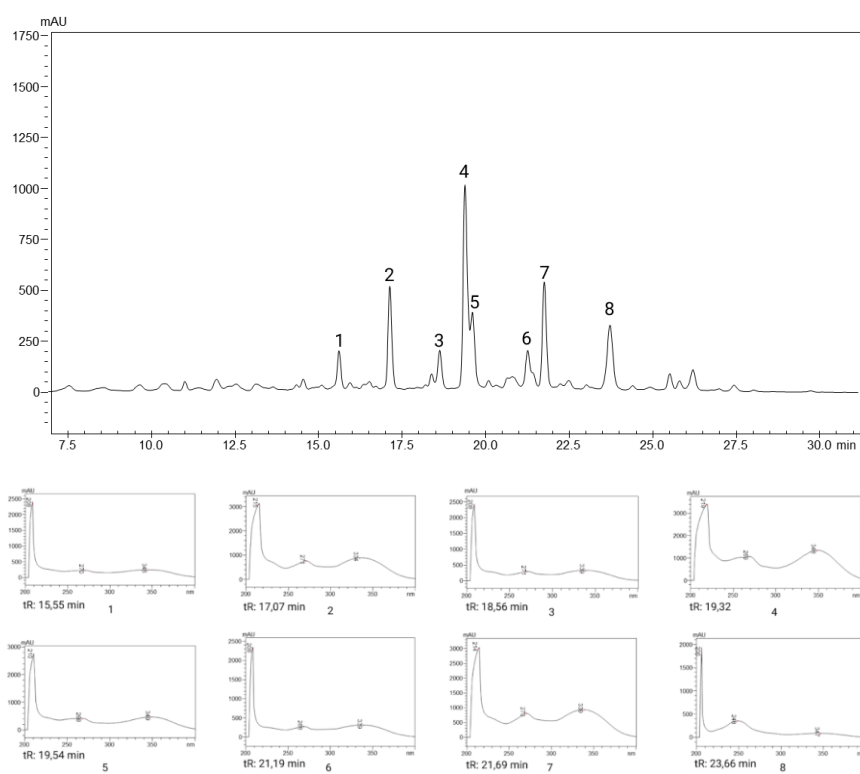


Figura 6 - Cromatograma obtido por HPLC-DAD e espectros UV do extrato hidrometanólico das folhas de *Passiflora edulis*.

Tabela 3 - Área e número total de picos obtidos com o emprego de diferentes técnicas de extração.

Método	Solvente	Áreas totais (10 ⁵)*	Picos*
Ultrassom	MeOH:H ₂ O (1:1 v/v)	465,27 ± 69,89 ^{a**}	32,33 ± 3,16 ^a
Percolação	EtOH:H ₂ O (6:4 v/v)	43,79,85 ± 8,8 ^c	4,88 ± 0,78 ^b
Maceração	EtOH:H ₂ O (7:3 v/v)	276,25 ± 124,66 ^b	21,44 ± 10,29 ^c

* Resultados apresentados como média ± desvio padrão (n=9)

** Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey 95% de confiabilidade.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA (Tabela 4) e teste *Tukey*, sendo possível a constatação que há uma diferença significativa entre todas as médias de área e número de picos totais. A extração com uso de solução hidrometanólica assistida por ultrassom, sendo a mais eficiente, foi escolhida para o norteameto das extrações com solventes eutéticos profundos (NADES).

Tabela 4 - Análise de variância *one-way* ANOVA para a extração de compostos de interesse de *Passiflora edulis* com solventes de referência. Onde SQ representa a Soma dos Quadrados, gl os Graus de Liberdade, MQ a Média Quadrática, F a Estatística F.

Fonte da variação	SQ (10 ¹⁴)	gl	MQ (10 ¹³)	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	86,83	3	289,43	67,95	0,0000	3,40
Dentro dos grupos	9,79	23	4,25			
Total	96,62	26				

A eficiência da extração assistida por ultrassom pode estar relacionada ao efeito de cavitação proporcionado pelo ultrassom, que promove ondas de forte energia de cisalhamento que ocasiona na ruptura da parede celular e libera os compostos polifenólicos (ABID et al., 2013). Além da metodologia, a escolha do solvente também influencia na eficiência da extração (TIWARI, et al., 2011). Para a extração de compostos como os flavonoides é comum o emprego de solventes orgânicos como metanol, em misturas com água, devido a sua seletividade quanto a polaridades dos compostos de interesse (CHAVES, et al., 2020).

Embora a extração assistida por ultrassom seja uma alternativa sustentável, devido ao baixo tempo para extração, eficiência, custo relativamente baixo e consumo menor de solvente (PAN et al., 2012), o uso de soluções metanólicas deve ser evitado, principalmente para análises farmacêuticas e alimentícias, devido a sua alta toxicidade (CHAVES, et al., 2020).

4.3. Análise exploratória da extração utilizando NADES

A princípio, foi executada uma análise exploratória das extrações por solventes eutéticos. Os NADES utilizados estão presentes na seção 4.1. Os extratos foram injetados em triplicata. Os solventes puros foram injetados em triplicata fim de exclusão de compostos de origem orgânica neles presentes. A Tabela 5 e a Figura 6 resume os resultados obtidos.

Tabela 5 - Área e número total de picos obtidos com o emprego de diferentes solventes eutéticos.

NADES	Abreviatura	Áreas totais (10^5)*	Picos*
#1	Thy:Ment (1:1)	90,57 $\pm$ 36,88 ^{d**}	1,5 $\pm$ 1,0
#2	MA:Sor (1:1)	292,10 $\pm$ 91,60 ^{c,d}	24,66 $\pm$ 9,81
#3	MA:Glu:Fru (1:1:1)	294,42 $\pm$ 4,12 ^{b,c,d}	24,66 $\pm$ 0,57
#4	ChCl:Sor (1:2)	256,59 $\pm$ 79,10 ^{b,c}	20,66 $\pm$ 8,48
#5	ChCl:Xo (4:1)	402,45 $\pm$ 78,17 ^{a,b,c}	28,66 $\pm$ 6,42
#6	ChCl:Glu (1:1)	526,58 $\pm$ 71,46 ^{a,b}	35,00 $\pm$ 4,35
#7	ChCl:LA (1:1)	614,46 $\pm$ 55,83 ^a	39,34 $\pm$ 2,88

* Resultados apresentados como média $\pm$ desvio padrão (n=3).

** Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey 95% de confiabilidade.

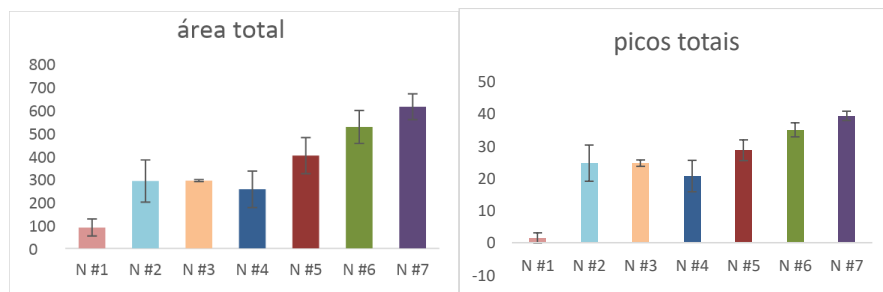


Figura 7 - Valores obtidos da área e número total de picos. Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (n=3).

Após submeter os dados à uma análise preliminar com *one-way* ANOVA (Tabela 6), seguida de Teste de Tukey (95% de confiabilidade), foi possível constatar que os NADESs #6 e #7 apresentaram uma maior performance extratora.

Tabela 6 - Análise de variância *one-way* ANOVA para a extração de compostos de interesse de *Passiflora edulis* com solventes eutéticos naturais. Onde SQ representa a Soma dos Quadrados, gl os Graus de Liberdade, MQ a Média Quadrática, F a Estatística F.

Fonte da variação	SQ (10^{14})	gl	MQ (10^{13})	F	valor-P (10^{-6})	F crítico
Entre grupos	48,40	7	69,15	15,48	6,48	2,84
Dentro dos grupos	5,804	13	4,46			
Total	54,21	20				

A diminuição da performance dos NADESs #2, #3 e #4, junto ao grande desvio padrão entre as replicatas de #2 e #3, podem estar relacionados à alta viscosidade das misturas. Quanto maior a viscosidade, mais lenta é a transferência de massa, que influencia na habilidade extratora. Embora deva-se levar a polaridade do NADES em consideração, a viscosidade da mistura também desempenha um papel importante nas extrações, sendo aqueles com maior viscosidade possuem uma menor condutividade (DAI et al., 2016; LIU et al., 2018).

Ainda que possuísse baixa viscosidade e maior hidrofobicidade (que pode influenciar na capacidade de adentrar na parede celular), o NADES #1 teve a performance mais baixa entre todas as amostras, que pode ser relacionada à falta de seletividade do solvente com os compostos de interesse, como também devido ao mentol possuir comportamento básico (DWAMENA, 2019).

Os NADES formados por 'ChCl:Xo', 'ChCl:Glu', 'ChCl:LA' possuem eficiência similar na extração ($p>0,05$), tanto na quantidade de picos quanto na área total obtidos. Che Zain (2021) e colaboradores colocaram que tanto álcoois, quanto ácidos orgânicos e açúcares são os melhores doadores de hidrogênio (HBD) em combinações com cloreto de colina (receptora de hidrogênio - HBA) na formação de NADES, principalmente para a extração de fenólicos e flavonoides. Em especial, o NADES baseado em ChCl:LA (1:1) obteve um cromatograma com picos de maior intensidade em relação aos demais, pois, além de apresentar a menor viscosidade, possivelmente sua polaridade que facilitou a interação entre NADES-metabólitos devido a facilitação

da penetração na parede vegetal. Além disso, se comparado aos demais, possui um pH menor (devido a presença de ácido láctico) o que pode influenciar a capacidade extratora de compostos polifenólicos, uma vez que em meios com pH baixo influencia na quebra de ligações entre compostos fenólicos e proteínas e polímeros de carboidrato (İLBAY; ŞAHİN; BÜYÜKKABASAKAL, 2014). Ademais, diversos trabalhos apresentam resultados semelhantes na extração de compostos polifenólicos utilizando NADES baseados em cloreto de colina e ácido láctico, como os trabalhos desenvolvidos por: Li e colaboradores (2015), na extração de compostos de chá verde (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze); Fanali e colaboradores (2021), na extração de compostos bioativos da pele de avelã; por Souza e colaboradores (2022), na extração de compostos das folhas da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.).

A migração de métodos de extração tradicionais, que utilizam solventes tóxicos, por métodos mais 'verdes' não necessita de grandes modificações na instrumentação geralmente empregada, mas requer uma abordagem diferente no desenvolvimento do método. A utilização de NADES como solventes extratores de compostos fenólicos das folhas do maracujá-amarelo é uma alternativa para substituição de misturas hidroalcoólicas comumente utilizadas na produção de fitoterápicos. Essa substituição pode ser uma alternativa para o desenvolvimento de fitoterápicos mais seguros para pessoas hepatopatas e crianças.

5. CONCLUSÃO

O solvente eutético natural baseado em cloreto de colina e ácido láctico (1:1) possui potencial para ser substituto da extração de referência com a solução hidrometanólica de MetOH:H₂O 1:1 (v/v). A metodologia desenvolvida neste trabalho, baseada em NADES, utiliza uma abordagem verde, pois o solvente utilizado possui componentes de baixa toxicidade, sendo esses metabólitos primários de plantas. Além disso, são biodegradáveis e, portanto, não geram resíduos perigosos, o que também torna o processo mais barato, pois elimina os custos de tratamento de resíduos.

REFERÊNCIAS

ABID, M. et al. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1182–1187, 2013.

ABBOTT, A.P. et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. **Chemical Communications**, n. 1, p. 70-71, 2002.

BERNACCI, L. C. et. al. *Passiflora edulis* Sims: the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). : the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 30, n. 2, p. 566-576, 2008.

BERALDO, J.; KATO, E. T. M. Morfoanatomia de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 233–239, maio 2010.

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

BRASIL. RENISUS Disponível em <http://www.fitoterapia.org.br/portal>. Acesso em 18 de agosto de 2020.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179–189, 2000.

CHAVES, J. O. et al. Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, 2020.

CHE ZAIN, M. S. et al. Physicochemical Properties of Choline Chloride-Based Natural Deep Eutectic Solvents (NaDES) and Their Applicability for Extracting Oil Palm Flavonoids. **Sustainability**, v. 13, n. 23, p. 12981, 2021.

CHOI, Y. H. et al. Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? **Plant Physiology**, v. 156, pp. 1701-1705, 2011.

COSTA, P. P. et al. ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA DE *Passiflora* spp. **Anais Seminário de Iniciação Científica - Universidade Estadual de Feira de Santana (UESF)**, n. 21, 2017.

DAI, Y. et al. Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents. **Journal of Chromatography A**, v. 1434, p. 50–56, 2016.

DWAMENA, A. Recent Advances in Hydrophobic Deep Eutectic Solvents for Extraction. **Separations**, v. 6, n. 1, p. 9, 12 fev. 2019.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1–23, 2004.

ESPINO, M. et al. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 126–136, 2016.

FANALI, C. et al. Choline Chloride–Lactic Acid-Based NADES As an Extraction Medium in a Response Surface Methodology-Optimized Method for the Extraction of Phenolic Compounds from Hazelnut Skin. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2652, 2021.

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

FERRERES, F. et al. New C-Deoxyhexosyl Flavones and Antioxidant Properties of *Passiflora edulis* Leaf Extract. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 55, n. 25, p. 10187-10193, 2007.

FUNARI, C. S. et al. Green chromatographic fingerprinting: An environmentally friendly approach for the development of separation methods for fingerprinting complex matrices. **Journal of Separation Science**, v. 37, p. 37-44, 2014a.

FUNARI, C.S. et al. A tradeoff between separation, detection and sustainability in liquid chromatographic fingerprinting. **Journal of Chromatography A**, v.1354, pp. 34-42, 2014b.

FUNARI, C.S. et al. On Track for a Truly Green Propolis—Fingerprinting Propolis Samples from Seven Countries by Means of a Fully Green Approach. **ACS Sustainable & Chemistry Engineering**, v.4, pp. 7110-7117, 2016.

GABER, Y., et al. HPLC-EAT (Environmental Assessment Tool): A tool for profiling safety, health and environmental impacts of liquid chromatography methods. **Green Chemistry**, v.13, p.2021- 2025, 2011.

GAŁUSZKA, A. et al. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v.37, pp. 61–72, 2012.

GAŁUSZKA, A., MIGASZEWSKI, Z., NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **Trends in Analytical Chemistry**, v.50, p.78-84, 2013.

GÓMEZ, A. V. et al. Effects of Microwave and Water Incorporation on Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) and Their Extraction Properties. **Advances in Food Science and Engineering**, v. 2, n. 4, 1 dez. 2018.

GOMEZ, F. J. V et al. A greener approach to prepare natural deep eutectic solvents. **Chemistry Select**. v. 3, pp. 6122-6125, 2018.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1–93, 2006.

HE, X. et al. Passiflora edulis: An Insight Into Current Researches on Phytochemistry and Pharmacology. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 2020.

İLBAY, Z.; ŞAHİN, S.; BÜYÜKKABASAKAL, K. A novel approach for olive leaf extraction through ultrasound technology : Response surface methodology versus artificial neural networks. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 9, p. 1661–1667, 25 jun. 2014.

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

KALJURAND, M.; KOEL, M. Recent Advancements on Greening Analytical Separation. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 2–20, 2011.

LIU, Y. et al. Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives. **Journal of natural products**, v. 81, n. 3, p. 679–690, 2018.

MARKHAM, K. R. Ultraviolet-visible absorption spectroscopy. In: **Techniques of flavonoid identification**. London: Academic Press, 1982. Chap 3, p. 36-51.

MCCORMICK, K; KAUTTO, N. The bioeconomy in Europe: An overview. **Sustainability**, v. 5, n. 6, p. 2589-2608, 2013.

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

PAN, G. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, n. 3, p. 486–490, 2012.

PEREIRA, C. A. M.; VILEGAS, J. H. Y. Constituintes químicos e farmacologia do gênero *Passiflora* com ênfase a *P. alata*, *P. edulis* e *P. incarnata*: revisão da literatura. **Rev Bras Med**, v. 6, n. 3, p.1-12, 2000.

PIETTA, P. Flavonoids as Antioxidants. **Journal Of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PILON, A.C., et al. Partial least squares model and design of experiments toward the analysis of the metabolome of *Jatropha gossypifolia* leaves: Extraction and chromatographic fingerprint optimization. **Journal of Separation Science**, v. 39, p.1023-1030, 2016.

PINTO, A; C. et al. PRODUTOS NATURAIS: ATUALIDADE, DESAFIOS E PERSPECTIVAS. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p.45-61, 2002.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

QI, X.-L. et al. Green and efficient extraction of bioactive flavonoids from *Equisetum palustre* L. by deep eutectic solvents-based negative pressure cavitation method combined with macroporous resin enrichment. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 142–148, 2015.

RADOĆŠEVIĆ et al. Natural deep eutectic solvents as beneficial extractants for enhancement of plant extracts bioactivity. **LWT- Food Science and Technology**, v.73, p. 45-51, 2016.

RIO GRANDE DO SUL. Secretária da Saúde. Departamento de Ações em Saúde / Organização de Clarice Azevedo de Machado, José Fernando da Rosa Vargas. - **Porto Alegre: Escola de Saúde Pública**, 2018.

RUDNICKI, M. et al. Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 719-724, 2007.

SILVA, J. K. et al. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: in vitro and in vivo study. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 882-890, 2013.

SIQUEIRA, K. M. M. DE et al. **Biologia floral do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg) em área irrigada no Submédio do Vale do São Francisco**. JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMI-ÁRIDO. **Anais...**Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2006.

SNYDER, L.R., KIRKLAND, J.J., GLAJCH, J.L. **Practical HPLC Method Development**. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: John Wiley & Sons, Inc., 1997.

SPAGOLLA, L.C. et al. Extração alcoólica de fenólicos e flavonoides totais de mirtilo "Rabbiteye" (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 30, n. 2, pp. 187-191, 2009.

SOUZA, O. A. et al. Combining natural deep eutectic solvent and microwave irradiation towards the eco-friendly and optimized extraction of bioactive phenolics from *Eugenia uniflora* L. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 26, p. 100618, 2022.

THE UNITED NATIONS. **Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development**. Disponível em: <<https://sustainabledevelopment.un.org/post2015/transformingourworld>>. Acesso em: 19 abril. 2020

TIWARI, P. et al. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **International e Pharmaceutica Scientia**, v.1, n.1, p.98-106, 2011.

VEIGA JUNIOR, V. F. DA. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 308–313, 2008.

WANG, H.; DING, J.; REN, N. Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v.75, pp. 197-208, 2016.

WEI, Z., et al. Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography. **Separation and Purification Technology**, v.149, p. 237-244, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO global report on traditional and complementary medicine 2019. **Who.int**, 2019.

ZERAIK, M. L. et al. Maracujá: um alimento funcional? **Brazilian Journal Of Pharmacognosy**, v. 3, n. 20, p.459-471, 2010.

ZIBADI, S.; WATSON, R. R. Passion Fruit (*Passiflora edulis*): Composition, Efficacy and Safety. **Evid. Based Integrative Med**, v. 1, n. 3, p.183-187, 2014.