

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E MONITORAMENTO
AMBIENTAL

LARISSA LÓREN DE SOUZA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS DE YACON
POR LÍQUIDO PRESSURIZADO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE SOLVENTE
E DE TEMPERATURA**

SOROCABA

ABRIL/2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E MONITORAMENTO
AMBIENTAL

LARISSA LÓREN DE SOUZA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS DE YACON
POR LÍQUIDO PRESSURIZADO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE SOLVENTE
E DE TEMPERATURA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental.

Orientação: Prof. Dr. Natan de Jesus Pimentel Filho

Coorientação: Profa. Dra. Ana Carolina de Aguiar

SOROCABA
ABRIL/2025

Souza, Larissa Lóren de

Obtenção e caracterização de extratos de folhas de yacon por líquido pressurizado sob diferentes condições de solvente e de temperatura / Larissa Lóren de Souza -- 2025.
101f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Natan de Jesus Pimentel Filho
Banca Examinadora: Maria Cristina Baracat Pereira, Beatriz Camargo Barros de Silveira Mello
Bibliografia

1. Smallanthus sonchifolius. 2. Compostos fenólicos. 3. Atividade antioxidante. I. Souza, Larissa Lóren de. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Larissa Lôren de Souza, realizada em 04/04/2025.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Natan de Jesus Pimentel Filho (UFSCar)

Profa. Dra. Maria Cristina Baracat Pereira (UFV)

Profa. Dra. Beatriz Camargo Barros de Silveira Mello (UFSCar)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por todos os ensinamentos e
dedicação incondicional com minhas
conquistas.

Ao meu marido, por me apoiar e incentivar
diariamente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades que tenho e pelas boas pessoas que cruzam meu caminho.

Ao meu marido, Igor, minha pessoa favorita no mundo, que torna meus dias muito mais felizes, que me inspira a ser o melhor de mim e sempre é fonte de apoio incondicional.

Aos meus pais, Eliana e Orlando, que me ensinaram a ser determinada, me incentivaram e viveram todas as dificuldades necessárias para que eu pudesse alcançar conquistas até então nunca imaginadas.

À minha irmã, Mel, que foi minha companhia em boa parte desses meses de trabalho, dividindo comigo sua casa e sua alegria.

Aos meus sogros e cunhado, pelo suporte no período que estive em Campinas realizando etapas dessa pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Natan, um exemplo de profissional ético e dedicado. Sou grata pela contribuição com minha formação como pesquisadora, por confiar na minha capacidade e incentivar na busca pela excelência.

À Prof. Dra. Ana Carolina, minha coorientadora, que dedicou seu tempo e conhecimento para me capacitar em metodologias fundamentais a esse trabalho.

Às Profas. Dra. Beatriz e Dra. Cristina, pelas contribuições durante as bancas de qualificação e defesa, essenciais para o aprimoramento deste trabalho.

Às minhas amigas do grupo de pesquisa FoMAS, Mayara e Fabiana, com quem pude dividir momentos de risadas, ter um convívio divertido e ajuda sempre que necessário.

Ao Prof. Dr. Julian Martínez, pela grande parceria e contribuição ao abrir as portas do seu laboratório de pesquisa, LAPEA, para mim. Aos membros do LAPEA, pessoas que marcaram de forma tão positiva meu período de mestrado, me recebendo e dividindo suas rotinas comigo. Estendo um agradecimento especial à Isa, que esteve presente de forma tão paciente quando precisei de algum auxílio.

Ao Prof. Dr. Mauricio Ariel Rostagno e à Dra. Thais Carvalho Brito-Oliveira, pelas importantes contribuições com os experimentos cromatográficos.

Ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental e à Universidade Federal de São Carlos, *campus* Sorocaba.

À Universidade Federal de São Carlos *campus* Lagoa do Sino, por toda estrutura de ensino e pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Número do projeto: 420526/2023-4).

“Há uma inocência na admiração: é a daquele a quem ainda não passou pela cabeça que também ele poderia um dia ser admirado”

(Friedrich Nietzsche)

RESUMO

SOUZA, L. L. **Obtenção e caracterização de extratos de folhas de yacon por líquido pressurizado sob diferentes condições de solvente e de temperatura.** 2025. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental) – Universidade Federal de São Carlos, *campus* Sorocaba, Sorocaba, 2025.

Ao longo da história, há registros do uso de plantas com fins medicinais. Com os avanços científicos, foi possível identificar alguns efeitos benéficos de plantas relacionados a compostos bioativos nelas presentes. Os compostos fenólicos se destacam como compostos bioativos com capacidade antioxidante, anti-inflamatória e potencial na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurodegenerativas, diabetes, osteoporose e retardamento do envelhecimento. Ainda pouco difundida, a yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tem demonstrado a presença de diversas classes de fenólicos em suas folhas, o que a torna um recurso natural promissor que pode ser associado a tecnologias emergentes de extração para a obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos com potencial ação antioxidante. O objetivo deste estudo foi revisar os métodos de extração emergentes, as classes de fenólicos presentes nas folhas de yacon, além dos métodos de quantificação e avaliação de capacidade antioxidante. A técnica de Extração com Líquido Pressurizado (PLE) e Extração com Água Subcrítica (SWE), que na literatura vem se mostrando eficientes na recuperação de compostos fenólicos, foram empregadas para obter extratos a partir de folhas secas de yacon. Como solventes, foram empregados etanol 25% (v/v), etanol 50% (v/v), etanol 75% (v/v), etanol 100% e água pura, sob as temperaturas de 60, 90 e 120 °C, com pontos extras para água em 110, 130 e 150 °C. Posteriormente, os extratos foram caracterizados quanto ao rendimento global, fenólicos totais pelo método de Folin Ciocalteu, identificação e quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de ultra desempenho com detector de matriz de fotodiodos (UPLC-PDA), capacidade antioxidante pelos métodos de capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) e capacidade de redução férrica (FRAP), teor de proteínas pelo método de Bradford, atividade anti-inflamatória *in vitro*, atividade antimicrobiana, ensaio de mínima concentração inibitória e análise de atividade anti-*quorum sensing*. Além disso, foi realizada uma comparação entre métodos de extração emergente e convencional, utilizando a técnica de Soxhlet. Os resultados mostraram que o aumento da temperatura, combinado com frações alcoólicas de até 50%, proporcionou maiores rendimentos, além de uma maior recuperação de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Na análise cromatográfica, foram identificados como principais compostos fenólicos o ácido cafeico, ácido glucárico, quercetina-O-hexosídeo e derivados de

kaempferol. Cinco extratos apresentaram atividade anti-inflamatória. A atividade antimicrobiana foi avaliada contra *Lactococcus lactis* ATCC 19435, por meio da determinação das concentrações mínimas inibitórias. Adicionalmente, foi verificada a atividade anti-*quorum sensing* frente a *Chromobacterium violaceum*, permitindo a visualização direta do efeito inibitório sobre a síntese de violaceína, regulada por esse mecanismo de comunicação celular. Os resultados indicam o potencial promissor da produção de extratos de folhas de yacon por meio da tecnologia PLE, favorecendo um processo mais sustentável e resultando na obtenção de compostos bioativos com potencial aplicação nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

Palavras-chave: *Smallanthus sonchifolius*, extração, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

ABSTRACT

SOUZA, L. L. **Obtaining and characterizing yacon leaf extracts by pressurized liquid under different solvent and temperature conditions.** 2025. Master's thesis (Masters in Biotechnology and Environmental Monitoring) – Federal University of São Carlos *campus* Sorocaba, Sorocaba, 2025.

The use of plants for medicinal purposes has been recorded throughout history. With scientific advances, it has been possible to identify some beneficial effects of plants related to the bioactive compounds present in them. Phenolic compounds stand out as bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory capacity and potential for preventing cardiovascular diseases, cancer, neurodegenerative diseases, diabetes, osteoporosis and slowing down ageing. Still little known, yacon (*Smallanthus sonchifolius*) has demonstrated the presence of various classes of phenolics in its leaves, which makes it a promising natural resource that can be associated with emerging extraction technologies to obtain extracts rich in phenolic compounds with potential antioxidant action. Pressurized Liquid Extraction (PLE) and Subcritical Water Extraction (SWE), which in the literature have been shown to be efficient in recovering phenolic compounds, were used to obtain extracts from dried yacon leaves. The solvents used were ethanol 25% (v/v), ethanol 50% (v/v), ethanol 75% (v/v), ethanol 100% and pure water, at temperatures of 60, 90 and 120 °C, with extra points for water at 110, 130 and 150 °C. Subsequently, the extracts were characterized in terms of overall yield, total phenolics using the Folin Ciocalteu method, identification and quantification of phenolic compounds by ultra-performance liquid chromatography with photodiode array detector (UPLC-PDA), antioxidant capacity using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reduction capacity (FRAP) methods, protein content using the Bradford method, in vitro anti-inflammatory activity, antimicrobial activity, minimum inhibitory concentration assay and analysis of anti-quorum sensing activity. In addition, a comparison was made between emerging and conventional extraction methods using the Soxhlet technique. The results showed that increasing the temperature, combined with alcohol fractions of up to 50%, provided higher yields, as well as greater recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity. In the chromatographic analysis, the main phenolic compounds identified were caffeic acid, glucaric acid, quercetin-O-hexoside and kaempferol derivatives. Five extracts showed anti-inflammatory activity. The antimicrobial activity was evaluated against *Lactococcus lactis* ATCC 19435 by determining the minimum inhibitory concentrations. In addition, anti-

quorum sensing activity was assessed using *Chromobacterium violaceum*, enabling the direct observation of the inhibitory effect on violacein synthesis, which is regulated by this cell-to-cell communication mechanism. The results highlight the promising potential of producing yacon leaf extracts through PLE, promoting a more sustainable process and yielding bioactive compounds with potential applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries.

Keywords: *Smallanthus sonchifolius*, extraction, phenolic compounds, antioxidant activity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC: *Association of Official Analytical Methods*

APPH: dicloridrato de 2,2'-azobis (2-metilpropionamidina)

ASE: extração acelerada por solvente

BSA: albumina sérica bovina

CA: capacidade antioxidante

CER: taxa de extração constante

CMI: concentração mínima inibitória

DC: período controlado por difusão

drm: matéria-prima seca

EA: mistura de etanol e água (v/v)

EAE: extração assistida por enzimas

EtOH: etanol

FER: taxa de extração decrescente

FOS: fruto-oligossacarídeos

FRAP: capacidade de redução férrica

FT: compostos fenólicos

GAE: ácido gálico equivalente

H₂O: água

HCA: ácidos hidroxicinâmicos

HSE: extração por agitação térmica

kHz: quilohertz

LB: Luria Bertani

LDL: lipoproteína de baixa densidade

MAE: extração assistida por micro-ondas

min: minutos

MPa: Mega Pascal

mV: milivolt

ORAC: capacidade de absorção do radical oxigênio

PEF: campo elétrico pulsado

PHWE: extração com água quente pressurizada

PLE: extração com líquido pressurizado

R²: coeficiente de determinação

ROS: espécies reativas de oxigênio

SFE: extração com fluido supercrítico

SWE: extração com água subcrítica

t: tempo

TE: trolox equivalente

TPTZ: 2,4,6-tris (2-piridil) -1,3,5-triazina

Trolox: ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcromano-2-carboxílico

UAE: extração assistida por ultrassom

X₀: rendimento global, teor de sólidos

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. YACON (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).....	18
3. METODOLOGIAS DE EXTRAÇÃO	20
3.1 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE).....	22
4. COMPOSTOS FENÓLICOS	24
4.1 ÁCIDOS FENÓLICOS	25
4.2 FLAVONOIDES.....	28
5. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	30
6. CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS NATURAIS	31
7. CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO 2 - OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS DE YACON POR LÍQUIDO PRESSURIZADO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE SOLVENTE E DE TEMPERATURA	46
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAIS E MÉTODOS	50
2.1 PREPARO DA AMOSTRA.....	50
2.2 EXTRAÇÃO POR LÍQUIDO PRESSURIZADO	50
2.3 EXTRAÇÃO COM ÁGUA SUBCRÍTICA	52
2.4 CINÉTICA E MODELAGEM PLE	52
2.5 EXTRAÇÃO POR SOXHLET.....	53
2.6 AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS	54
2.6.1 Rendimento global.....	54
2.6.2 Fenólicos totais	54
2.6.2.1 Identificação e quantificação de compostos fenólicos.....	54
2.6.3 Capacidade antioxidante	55
2.6.3.1 Capacidade de Redução Férrica (FRAP).....	55
2.6.3.2 Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio.....	56
2.6.4 Teor de proteínas.....	56
2.6.5 Atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i>	56
2.6.6 Atividade antibacteriana	57
2.6.7 Ensaio de concentração mínima inibitória (CMI)	57
2.6.8 Atividade anti- <i>quorum sensing</i>	58
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	58
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58

3.1 CINÉTICA E MODELAGEM	58
3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS.....	60
3.2.1 Rendimento global.....	62
3.2.2 Fenólicos totais	63
3.2.2.1 Identificação e quantificação de compostos fenólicos.....	65
3.2.3 Teor de proteínas.....	68
3.2.4 Capacidade antioxidante.....	68
3.3 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA <i>in vitro</i>	71
3.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	72
3.5 ATIVIDADE ANTI- <i>QUORUM SENSING</i>	75
4. CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	77
ANEXO I.....	95

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas pelos seres humanos, para fins diversos, é uma prática que remonta à antiguidade, inicialmente com fins nutricionais e, posteriormente, com a descoberta de suas propriedades medicinais, contribuindo assim para o tratamento de doenças e avanços na saúde (Azmir *et al.*, 2013). Atualmente, sabe-se que tais propriedades estão relacionadas aos compostos bioativos, dos quais as plantas representam uma rica fonte (Da Silva *et al.*, 2022).

Os compostos bioativos são metabólitos secundários produzidos pelas plantas como parte de sua defesa contra estresses ambientais e patógenos (Bernhoft, 2010). A obtenção desses compostos requer a utilização de métodos de extração adequados, pois apenas dessa forma é possível realizar as etapas de separação, identificação e caracterização (Azmir *et al.*, 2013). Nas últimas décadas, tecnologias emergentes, como a extração com líquido pressurizado, têm sido desenvolvidas para melhorar aspectos como tempo de processamento, otimização do uso de solventes, rendimento e qualidade dos extratos (Smith, 2003; Azmir *et al.*, 2013).

Entre as matrizes vegetais com potencial ainda pouco explorado destaca-se a folha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*), cuja aplicação se concentra majoritariamente na forma de chás, embora a planta seja mais conhecida por sua raiz tuberosa (Ohyama *et al.*, 1990; Hondo, 2000). Diversas metodologias têm sido utilizadas para a extração de compostos bioativos das folhas de yacon, incluindo extração supercrítica com CO₂ puro ou combinado com cossolventes (Cruz *et al.*, 2019), infusão e decocção com água fervente, extração por Soxhlet com metanol (Andrade *et al.*, 2014), extração com acetona, maceração com metanol (Oliveira *et al.*, 2013) e extração seguida de remoção de clorofila e acidificação com acetato de etila (Simonovska *et al.*, 2003).

Nesse contexto, destaca-se a relevância de investigar o potencial das folhas de yacon por meio de tecnologias mais sustentáveis, como a PLE, especialmente com o uso de solventes de menor impacto ambiental, como etanol e água. Essa abordagem não apenas contribui para a consolidação de processos extrativos mais eficientes e ecológicos, como também favorece a valorização de uma matéria-prima subutilizada, ampliando seu aproveitamento e as possibilidades de aplicação dos extratos nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

2. YACON (*Smallanthus sonchifolius*)

Na região dos Andes, na América do Sul, uma série de tubérculos são produzidos como constituintes da alimentação tradicional, sendo a yacon, *Smallanthus sonchifolius*, parte dessas culturas (Leidi *et al.*, 2018). Com a composição de compostos bioativos ainda pouco explorada, existe a grande necessidade de entender os mecanismos moleculares por trás dos benefícios de

tubérculos (Leidi *et al.*, 2018). Entre os anos de 2013 e 2017, a iniciativa LATINCROP foi conduzida como forma de reunir informações quanto à biodiversidade e usos para grãos e raízes de origem Andina, dentre estes a yacon (Bosque *et al.*, 2016).

Tradicionalmente utilizada como fruta, a yacon apresenta alto teor de água, cerca de 83 a 90% do peso fresco, frutose e fruto-oligossacarídeos (FOS) (Espín; Villacrés; Brito Grandes, 2004; Santana; Cardoso, 2008; Coll Aráoz *et al.*, 2014; Jiménez; Sammán, 2014). O elevado teor de FOS nas raízes é o que a torna um alimento funcional, uma vez que estes são prebióticos e, conseqüentemente, favorecem a microbiota intestinal (Sabater-Molina *et al.*, 2009; Caetano *et al.*, 2016). Ao longo dos anos 2000, em países como Japão e Nova Zelândia, a yacon passou a ser cultivada para alimentação, se tornando cada vez mais popular por seus compostos bioativos (Douglas *et al.*, 2005; Tokita *et al.*, 2011). Quando comparada a outros tubérculos e raízes, a yacon demonstra alta concentração de compostos fenólicos, aproximadamente 200 mg/100 g de matéria fresca comestível (Valentová; Ulrichová, 2003).

Apesar da maior popularidade da raiz, as folhas de yacon são utilizadas para o preparo de chá e estudos demonstraram que as folhas secas apresentam atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (Aybar *et al.*, 2001; Lin; Hasegawa; Kodama, 2003; Valentová; Ulrichová, 2003; Oliveira *et al.*, 2013). As folhas apresentam alta densidade de glândulas e uma trama de pelos que dificulta o acesso de insetos, sendo estes aspectos, importantes métodos de defesa (Santana; Cardoso, 2008).

Seus compostos bioativos estão associados à prevenção e ao tratamento de doenças crônicas que envolvem estresse oxidativo, principalmente diabetes e obesidade (del Cerro; Rejavinsky; Padilla, 2004; Valentová *et al.*, 2004; Villacrés *et al.*, 2007; Russo *et al.*, 2015). A concentração de fenólicos e flavonoides, importantes classes de bioativos, pode variar de acordo com o cultivar e processo de extração (Khajehei *et al.*, 2017). Para folhas, Andrade *et al.* (2014) obtiveram, em extrações realizadas por decocção em água fervente, infusão em água fervente e Soxhlet com metanol, extratos com concentração de fenólicos de 42,2, 39,9 e 3,60 mg GAE/g de matéria-prima seca (drm) para as respectivas metodologias. Simonovska *et al.* (2003) realizaram a extração a partir de folhas com acetato de etila, decocção em água fervente e infusão de chá, obtendo para compostos fenólicos os resultados de 3,20, 17,6 e 35,8 mg GAE/g drm, respectivamente.

Dentre os fenólicos obtidos em extratos de folhas de yacon, foram relatados ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, kaempferol e quercetina (Simonovska *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2014). Além destes compostos, a presença de lactonas sesquiterpênicas em extratos de folhas foi relatada, relacionada à ação anti-inflamatória, sendo estas enidrina,

uvedalina, sonchifolina e polimatina B (Inoue *et al.*, 1995; Lin; Hasegawa; Kodama, 2003; Schorr; Merfort; Da Costa, 2007; Oliveira *et al.*, 2013). Em comparação com as raízes, as folhas apresentam maior teor de compostos fenólicos (Santana; Cardoso, 2008).

3. METODOLOGIAS DE EXTRAÇÃO

A extração de compostos fenólicos depende principalmente da matriz de extração e das propriedades químicas dos fenólicos, como número de anéis aromáticos e grupos hidroxila na estrutura, polaridade e concentração (Khoddami; Wilkes; Roberts, 2013). Sendo assim, selecionar um único método para extração de diferentes matrizes vegetais é um desafio (Kumar; Goel, 2019). A maior parte dos estudos acerca de compostos bioativos de plantas discute a seleção do método de extração mais adequado (Smith, 2003; Sasidharan *et al.*, 2011).

Nos últimos 50 anos, têm sido desenvolvidos métodos de extração alternativos e mais ambientalmente sustentáveis, que possibilitem a diminuição de uso de solventes sintéticos e químicos orgânicos, além da redução do tempo de processo e melhor rendimento e qualidade dos extratos (Azmir *et al.*, 2013). Dentre essas técnicas, tem-se ultrassom, campo elétrico pulsado, extração enzimática, extração com fluido supercrítico e extração com líquido pressurizado (Vinatoru *et al.*, 1997; Meireles, 2003; Toepfl *et al.*, 2006; Gaur *et al.*, 2007; Višnjevec *et al.*, 2024). Entretanto, metodologias convencionais como Soxhlet ainda são consideradas uma referência de comparação para os novos desenvolvimentos (Azmir *et al.*, 2013).

Embora as tecnologias de extração sejam diferentes, compartilham do mesmo propósito, que é atender aos seguintes objetivos: extrair o composto alvo de amostras complexas de plantas; aumentar a seletividade de métodos analíticos, minimizando a interferência de outros componentes; aumentar a sensibilidade do ensaio elevando a concentração de compostos alvo; tornar os compostos mais suscetíveis à detecção e separação; e ser um método robusto e de reprodutibilidade, apesar de variações na matriz de extração (Smith, 2003).

Entre as técnicas convencionais de extração de compostos bioativos, destacam-se a extração por Soxhlet, a maceração e a hidrodestilação (Azmir *et al.*, 2013). O método de Soxhlet foi proposto em 1879 por Franz Ritter Von Soxhlet (Soxhlet, 1879), e continua a ser utilizado até os dias atuais. A maceração iniciou-se como um processo realizado em casa para produção de tônicos, mas que evoluiu para a extração de óleos essenciais e compostos bioativos (Azmir *et al.*, 2013). A hidro destilação conta com três possíveis variações: destilação com água, destilação com água e vapor, e destilação com vapor direto (Vankar, 2004). Alguns dos obstáculos de métodos convencionais são o longo tempo de processo, a necessidade de

solventes de alta pureza, além da baixa seletividade de extração (De Castro; Garcia-Ayuso, 1998).

Quanto às metodologias não convencionais, a extração assistida por ultrassom (UAE) consiste principalmente na cavitação, que é a produção, o crescimento e colapso de bolhas na matriz de extração, além de efeitos de vibração, esmagamento e mistura, rompendo a parede celular e resultando na extração de compostos da matriz (Ruiz-Jiménez; Priego-Capote; de Castro, 2004; Cravotto *et al.*, 2008; Wen *et al.*, 2018). O fenômeno de cavitação acontece a partir da pressão negativa, que atinge um ponto crítico (limiar de cavitação), fazendo com que o líquido se transforme em gás ou vapor em uma área específica (Wen *et al.*, 2018). As frequências superiores a 20 kHz estão além da capacidade auditiva humana. A partir desse ponto, a extração com ultrassom é aplicada, com uma faixa de eficiência do processo variando entre 20 e 50 kHz (Mason, 2002; Wen *et al.*, 2018). A vantagem da tecnologia está em que a energia proveniente do ultrassom promove lixiviação de compostos orgânicos e inorgânicos da matriz de extração (Herrera; De Castro, 2005).

A técnica de campo elétrico pulsado (PEF) consiste em destruir paredes celulares pela formação de poros na membrana (Wang; Chen; Lü, 2014). A membrana celular apresenta compostos dielétricos que, sob a aplicação de um campo elétrico, são carregados e fluem para a direção oposta do eletrodo, deposição que leva à geração de um potencial transmembrana de aproximadamente 10 mV (Zimmermann; Pilwat; Riemann, 1974; Arshad *et al.*, 2020; Tylewicz, 2020). Cada material apresenta um valor de campo elétrico crítico, que é o campo de máxima magnitude que a célula suporta antes que ocorra a formação de poros (Naliyadhara *et al.*, 2022). Se o campo elétrico externo é inferior ao campo elétrico crítico, não ocorre formação de poros; se for igual ou ligeiramente superior ao crítico, ocorre formação de poros reversível, que ao cessar permitirá que a membrana retome sua estrutura original. Por outro lado, campo elétrico muito superior ao crítico resultará na formação de poros irreversível na membrana, com ruptura celular (Arshad *et al.*, 2020; Tylewicz, 2020). Com a destruição da membrana celular da matéria-prima de extração, ocorre o aumento da transferência de massa (Azmir *et al.*, 2013).

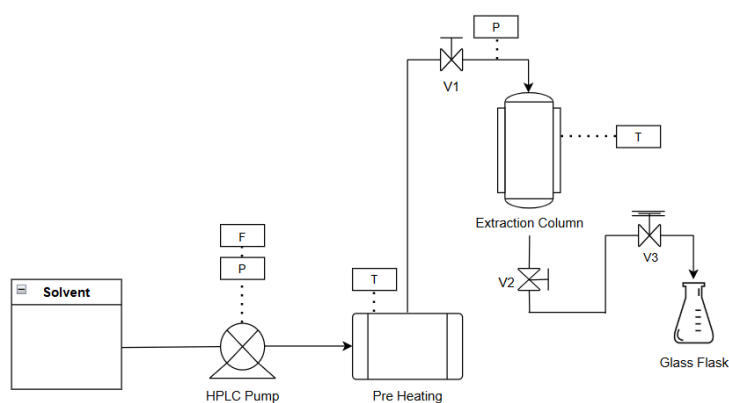
A extração assistida por enzimas (EAE) ocorre pela adição de enzimas como celulase, α -amilase e pectinase ao longo da extração, resultando em quebra das paredes celulares e hidrólise da estrutura de lipopolissacarídeos (Rosenthal; Pyle; Niranjana, 1996; Singh *et al.*, 1999). Esse tipo de técnica pode ser integrada a demais processos como extração assistida por ultrassom, micro-ondas e extração com fluido supercrítico (Nadar; Rao; Rathod, 2018).

3.1 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)

Pesquisas na literatura indicam que a metodologia de extração com líquido pressurizado (PLE), pode ser conhecida também pelo termo extração acelerada por solvente (ASE), bem como recebe os termos extração com água subcrítica (SWE) e extração com água quente pressurizada (PHWE) quando utiliza-se água como solvente (Khataei *et al.*, 2022; Machado *et al.*, 2024). Como os próprios termos sugerem, a técnica consiste em conduzir a extração sob elevadas condições de temperatura e pressão, melhorando o desempenho do processo quando comparado a técnicas que utilizam temperatura ambiente e pressão atmosférica (Richter *et al.*, 1996; Camel, 2001; Viganó *et al.*, 2016b). As temperaturas empregadas no processo podem alcançar até 200 °C, com pressões na faixa de 3,5-20 MPa (Mustafa; Turner, 2011). A técnica é uma das metodologias de extração não convencional mais promissoras, cujos extratos demonstram maior pureza quando comparada a métodos convencionais de extração (Azmir *et al.*, 2013; Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2021).

De modo geral, a unidade de extração apresenta uma célula na qual está contida a matéria-prima em um leito fixo compactado, fonte de aquecimento e bomba para bombeamento do solvente a partir de seu reservatório (Machado *et al.*, 2024). Um processo de escala laboratorial tem funcionamento como descrito por Viganó *et al.* (2022), no qual solvente é bombeado e passa por um banho de aquecimento para atingir a temperatura do processo. Em seguida, entra na célula de extração aquecida, passando pelo leito, dissolvendo e desorvendo compostos, e saindo da célula numa mistura de solvente e compostos extraídos, que é coletada após despressurização com válvula micrométrica. Um diagrama esquemático desse tipo de tecnologia está apresentado na Figura 1.

Figura 1 – Sistema empregado para Extração com Líquido Pressurizado



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

V1 e V2: válvulas de bloqueio; V3: válvula micrométrica; F: Controle de vazão; P: sensor de pressão; T: sensor de temperatura.

Parâmetros como temperatura, fluxo de solvente, tempo e solvente são importantes para a otimização do processo (Machado *et al.*, 2024). A energia térmica ajuda a superar interações coesivas (molécula-molécula) e interações adesivas entre moléculas diferentes (compostos de interesse e matriz), reduzindo a energia de ativação para que ocorra dessorção (Möckel; Welter; Melzer, 1987). A aplicação de temperaturas elevadas, acima do ponto de ebulição do solvente, contribui para diminuição de viscosidade e tensão superficial, melhorando a difusão na amostra, além de reduzir a interação dos compostos de interesse com a matriz, de modo que a combinação desses pontos favorece a transferência de massa (Lefebvre; Destandau; Lesellier, 2021).

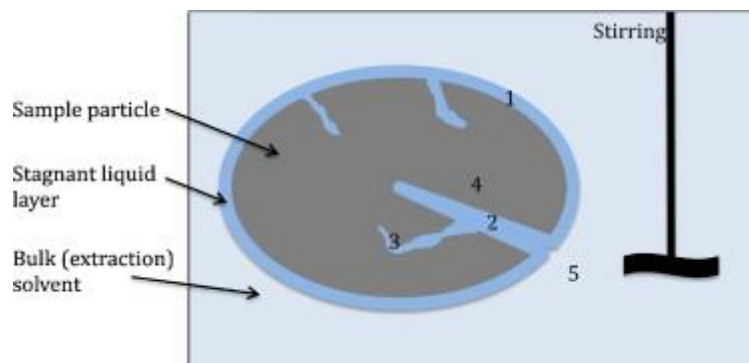
A variação do fluxo de solvente é uma forma de reduzir o tempo de extração, porém, por se tratar de uma extração sólido-líquido, aumentar o fluxo de modo arrojado pode prejudicar o rendimento de extração, isso porque há três mecanismos regulando a extração: solubilidade dos analitos no solvente, difusividade para a superfície e penetração do solvente na matriz (Priego-Capote, 2021). Em matrizes vegetais, a solubilidade e difusividade são limitantes para o fluxo de solvente, de modo que o tempo de contato entre solvente e matéria-prima deve ser considerado (Machado *et al.*, 2024).

Para escolha do solvente, é recomendável considerar o princípio de que “semelhante dissolve semelhante”, ou seja, solventes polares são indicados para analitos polares, assim como solventes apolares para analitos apolares (Mustafa; Turner, 2011). Aspectos como economia, segurança e sustentabilidade devem ser considerados, priorizando solventes menos tóxicos de fácil remoção ou recuperação (Mustafa; Turner, 2011). Além disso, a escolha do solvente pode afetar não apenas a composição do extrato, mas também a bioatividade dos compostos extraídos (Martins *et al.*, 2015).

De modo geral, a extração de compostos de interesse a partir de uma matriz pode ser dividida em algumas etapas (Mustafa; Turner, 2011). Ao início, ocorre dessorção do composto ligado à matriz que, por difusão, migra do interior desta até a interface com o fluido, na qual se dispersa e continua a difundir através dos poros até a superfície, parte sobre a qual a extração ocorre por convecção, sendo por fim recuperado (Camel, 2001; Pawliszyn, 2003; Mustafa; Turner, 2011). Uma característica crítica desse processo é a posição do composto de interesse em relação à matriz (Figura 2), para a qual existem cinco já propostas: adsorvida à superfície da matriz (1), dissolvida no solvente em um poro/adsorvida na superfície (2),

dissolvida/adsorvida a um micro ou nano poro da matriz (3), quimicamente ligada à matriz (4), dissolvida na solução (5) (Pawliszyn, 2003; Waldebäck, 2005).

Figura 2 – Posição do composto de interesse em relação à matriz



Fonte: (Mustafa; Turner, 2011).

4. COMPOSTOS FENÓLICOS

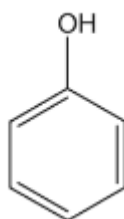
Dentre os compostos presentes em plantas, tem-se metabólitos primários e secundários, sendo esta segunda classe caracterizada por não participar diretamente em processos fundamentais do metabolismo, mas agregar com mecanismos de defesa para as células (Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2021). Dentre os metabólitos secundários encontram-se os compostos fenólicos, sobre os quais há um crescente interesse, haja vista a demonstração do potencial de prevenção contra doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurodegenerativas, diabetes, osteoporose e retardamento do envelhecimento (Yang *et al.*, 1997; Scalbert *et al.*, 2005; Morales-Gonzalez, 2013). Destaca-se ainda sua forte afinidade em quelar metais, o que contribui para sua conhecida ação antioxidante (Mughal *et al.*, 2024).

Compostos fenólicos são amplamente encontrados em frutas, legumes, vegetais, chás, vinho e café, sendo responsáveis por propriedades sensoriais, como cor, sabor e aroma, de modo que a variabilidade em aromas e cores de vinhos é associada à presença destes compostos. Mesmo o sabor amargo em frutas é resultado da interação de compostos fenólicos com a glicoproteína salivar (Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2021). Uma ampla variedade de compostos constitui a classe de fenólicos, dentre os quais pode-se citar flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos, lignanas, taninos, curcuminoides, isoflavonoides, ligninas, cumarinas e glicosídeos fenólicos (Saini *et al.*, 2024).

Estruturalmente, os compostos fenólicos apresentam um ou mais grupos hidroxila ligados diretamente a um anel aromático, sendo o fenol, que possui o benzeno como anel aromático, a estrutura básica de todo o grupo (Figura 3) (Vermerris; Nicholson, 2007). Os

compostos fenólicos podem ser divididos em dois grupos: fenólicos simples e derivados mais complexos; sendo que os mais complexos possuem maior número de anéis aromáticos agrupados e maior número de grupos hidroxila (Rice-Evans; Packer, 2003; Balasundram; Sundram; Samman, 2006; Zheng *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2019). Dentro do grupo de fenóis simples estão: ácido para-hidroxibenzóico, ácido salicílico, ácido cafeico, ácido gálico, ácido vanílico, ácido sinapínico, ácido cumárico e derivados do ácido cinâmico (Filipović *et al.*, 2015; Kulbat, 2016).

Figura 3 – Fórmula estrutural do fenol



Fonte: (Vermerris; Nicholson, 2007).

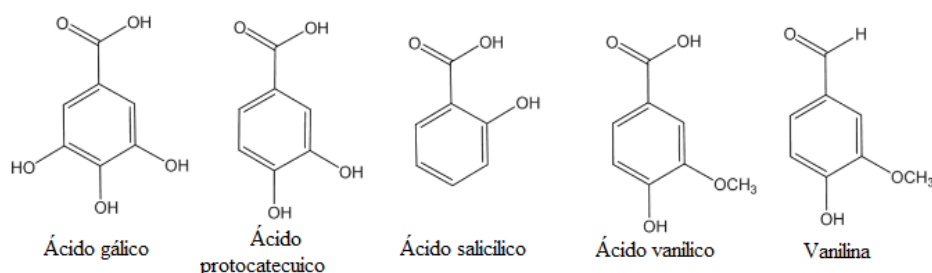
Por se tratar de uma classe tão diversa, formas de classificar esses compostos foram sugeridas, como pela quantidade de carbonos presentes na molécula, pela divisão em “grupo comum” e “grupo menos comum”, ou pelo agrupamento dos fenóis em três categorias: amplamente distribuídos, presentes em todas as plantas; menos distribuídos, limitados a um número de compostos conhecidos; e fenólicos presentes como polímeros (Vermerris; Nicholson, 2007).

Para folhas de yacon, ácido cafeico, quercetina, kaempferol, ácido ferúlico e derivado de ácido clorogênico estão descritos na literatura (Simonovska *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2014). Ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido clorogênico constituem a classe de ácidos fenólicos, enquanto quercetina e kaempferol pertencem a classe de flavonoides (Jeganathan *et al.*, 2016; Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2021).

4.1 ÁCIDOS FENÓLICOS

Com estrutura simples, os ácidos fenólicos, ou ácidos hidroxibenzoicos, contam com um fenol e grupo carboxílico, como é observado para ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido salicílico e ácido vanílico, representados na Figura 4 (Vermerris; Nicholson, 2007).

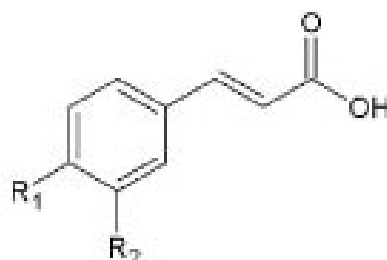
Figura 4 – Estruturas químicas de ácidos fenólicos



Fonte: Adaptado de Vermerris e Nicholson (2007).

Uma segunda divisão do subgrupo de ácidos fenólicos é a de ácidos hidroxicinâmicos (HCA) (Clifford, 1999), da qual fazem parte o ácido cafeico, o ácido *p*-cumárico e o ácido ferúlico (Figura 5). À classe dos ácidos fenólicos, também estão associados os aldeídos hidroxibenzoicos, derivados de ácidos fenólicos que apresentam um grupo aldeído ao invés de grupo carboxílico, como é o caso da vanilina (Figura 4) (Vermerris; Nicholson, 2007).

Figura 5 – Estrutura de ácidos hidroxicinâmicos



$R_1 = \text{OH}$: Ácido *p*-cumárico

$R_1 = R_2 = \text{OH}$: Ácido cafeico

$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OCH}_3$: Ácido ferúlico

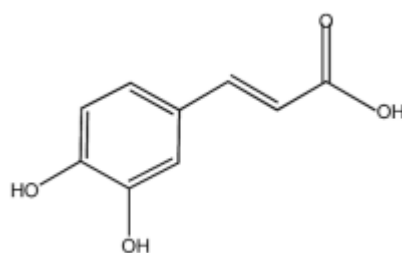
Fonte: Adaptado de Oliveira e Bastos (2011).

Por meio das Figuras 4 e 5 pode-se notar que a diferença estrutural entre os ácidos hidroxibenzoicos e os ácidos hidroxicinâmicos está em que o primeiro grupo apresenta uma estrutura cíclica e grupo carboxila, enquanto o segundo possui uma cadeia lateral que se estende a partir do anel.

Entre os ácidos fenólicos, destaca-se o ácido clorogênico, que, juntamente com o ácido ferúlico e o ácido cafeico, compõem os principais ácidos fenólicos presentes nas folhas de yacon (Andrade *et al.*, 2014; Kumar; Goel, 2019). Dessa forma, é relevante aprofundar o entendimento sobre esses compostos, a fim de refletir sobre a concentração de fenólicos e a bioatividade avaliadas nos extratos produzidos por extração com líquido pressurizado.

O ácido cafeico é um dos mais abundantes ácidos hidroxicinâmicos, representando cerca de 75 a 100% do total de HCA presentes em frutas, com potente ação antioxidante reportada (Gülçin, 2006; D'Archivio *et al.*, 2007; Mughal *et al.*, 2024). Sua estrutura consiste em um fenilpropanoide (C6-C3), contendo um anel aromático ligado a um grupo carboxílico (Figura 6) (Magnani *et al.*, 2014; Mughal *et al.*, 2024). Sua atividade antioxidante é superior à do ácido p-cumárico e do ácido ferúlico, quanto a inibição da oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e extinção de radicais (Meyer *et al.*, 1998; Kikuzaki *et al.*, 2002).

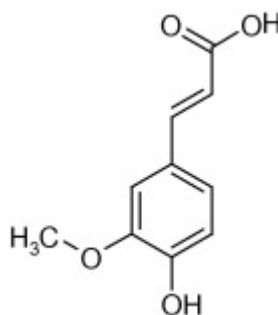
Figura 6 – Estrutura química do ácido cafeico



Fonte: Adaptado de Magnani *et al.* (2014).

O ácido ferúlico (Figura 7), outro HCA, está amplamente presente em vegetais, frutas e bebidas como café e cerveja (Rechner; Pannala; Rice-Evans, 2001; D'Archivio *et al.*, 2007). O ácido ferúlico é um composto de múltiplas funções que atua não apenas com ação antioxidante, mas também anti-inflamatória (Li *et al.*, 2021). Possui como propriedade remover o excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS), ou agir diretamente sobre a remoção de radicais livres e enzimas que produzem radicais livres (Zduńska *et al.*, 2018).

Figura 7 – Estrutura química do ácido ferúlico

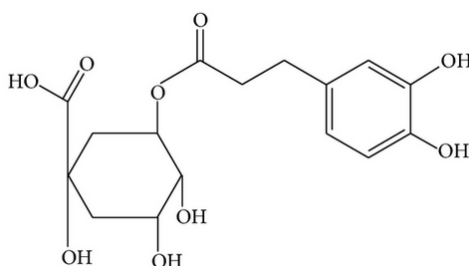


Fonte: (Mancuso; Santangelo, 2014).

O ácido clorogênico (Figura 8) é um dos principais ácidos fenólicos encontrados em bebidas como café e chás (Meng *et al.*, 2013; Venditti *et al.*, 2015). Essa denominação abrange

um grupo de ésteres formados por ácidos hidroxicinâmicos conjugados ao ácido quínico, incluindo derivados coumaroilquínicos, feruloilquínicos, cafeoilquínicos e dicafeoilquínicos (Naveed *et al.*, 2018). De acordo com a literatura, o ácido clorogênico apresenta propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, além de evidências que indicam sua ação moduladora sobre o metabolismo de lipídios e da glicose, especialmente em distúrbios metabólicos de origem genética (Zhang *et al.*, 2011).

Figura 8 – Estrutura química do ácido clorogênico



Fonte: (Meng *et al.*, 2013)

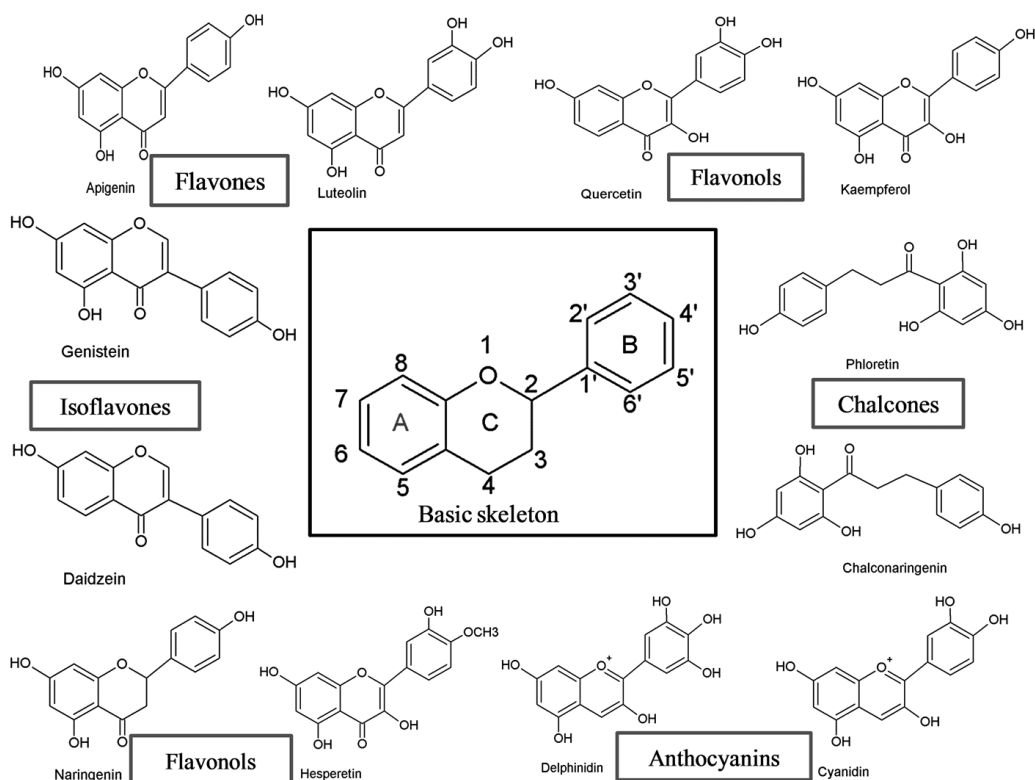
Um importante ponto quanto à extração desses compostos, visando a aplicação de métodos mais sustentáveis, é a sua solubilidade em água. Mota *et al.* (2008) avaliaram a solubilidade em água de diversos compostos fenólicos, incluindo os fenilpropanoides, ácidos cafeico e ferúlico, e observaram que o ácido ferúlico possui menor solubilidade em relação ao ácido cafeico, o que está relacionado ao número de grupamentos hidroxila presentes em cada um: dois no ácido cafeico e um no ácido ferúlico (Mota *et al.*, 2008). Ambos apresentam baixa solubilidade quando comparados ao ácido gálico, um ácido hidroxibenzóico com alta solubilidade em água, atribuída ao número de grupamentos hidroxila, que aumentam suas interações com a água (Mota *et al.*, 2008). Entretanto, a solubilidade pode ser melhorada com maior temperatura (Mota *et al.*, 2008). O ácido clorogênico é solúvel em etanol, metanol, água e acetonitrila, devido à sua natureza polar, com diversos grupos hidroxila em sua estrutura (Belay; Gholap, 2009; Pimpley *et al.*, 2020).

4.2 FLAVONOIDES

Os flavonoides (Figura 9) são classificados em diferentes grupos com base no carbono do anel C ao qual o carbono do anel B está conectado, bem como no grau de insaturação e oxidação do anel C (Panche; Diwan; Chandra, 2016). Quando o anel B se liga ao C através do carbono 3, formam-se as isoflavonas. Quando a ligação ocorre pelo carbono 4, têm-se os

neoflavonoides. Já quando a ligação é feita pelo carbono 2, a classe é subdividida, dependendo das características estruturais do anel C, nos seguintes grupos: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanóis ou catequinas, antocianinas e chalconas (Panche; Diwan; Chandra, 2016).

Figura 9 – Estrutura base e subdivisões dos flavonoides



Fonte: (Panche; Diwan; Chandra, 2016)

A quercetina e kaempferol pertencem aos flavonóis, uma subclasse de flavonoides caracterizada pela presença de um grupo cetona (Panche; Diwan; Chandra, 2016), sendo a quercetina a principal representante dessa subclasse. Este composto tem sido relatado como potencialmente eficaz na prevenção da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) por meio da captura de radicais livres e da quelatação de íons metálicos (Bentz, 2017). Essa capacidade pode contribuir para a prevenção de doenças como câncer, aterosclerose e inflamação crônica (Hollman; Katan, 1997; Murota; Terao, 2003).

Embora haja discordâncias quanto aos dados experimentais, é amplamente reconhecida a baixa solubilidade da quercetina em água (Abraham; Acree Jr, 2014). Nesse contexto, a extração com água subcrítica surge como uma alternativa eficaz para flavonoides não polares, como a quercetina, devido à seletividade dependente da temperatura (Ko *et al.*, 2011). Ko *et al.* (2011) utilizaram a técnica de extração com água subcrítica em uma faixa de temperatura de 100 a 190 °C para obter quercetina a partir de casca de cebola, observando que o aumento de

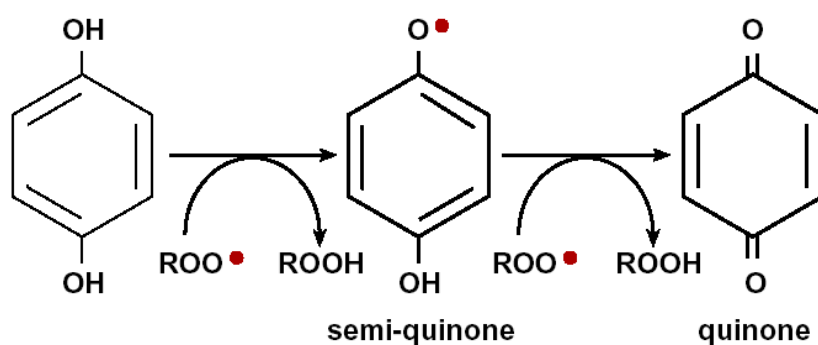
temperatura favorecia a recuperação do composto de interesse, alcançando o melhor resultado a 165 °C, com degradação da quercetina em temperaturas superiores a essa. O kaempferol já foi identificado em uma ampla variedade de plantas comestíveis e medicinais, como levantado por Burgos-Moron *et al.* (2011), que analisaram cerca de 400 espécies botânicas. Sua atividade antioxidante foi reportada tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Sanz *et al.*, 1994; Hibatallah; Carduner; POELMAN, 1999; Bonina *et al.*, 2002; Aniya *et al.*, 2005; Kampkötter *et al.*, 2007; Verma *et al.*, 2009), além de sua atividade anti-inflamatória (Della Loggia *et al.*, 1988; Innocenti *et al.*, 2005; De Melo *et al.*, 2009; Medeiros *et al.*, 2009), há também evidências de que uma dieta rica em kaempferol pode reduzir o risco de desenvolvimento de alguns tipos de câncer (Garcia-Closas *et al.*, 1998; Garcia-Closas *et al.*, 1999; Gates *et al.*, 2007; Nöthlings *et al.*, 2007; Cui *et al.*, 2008). Adicionalmente, o kaempferol demonstra atividade antibacteriana, com ênfase no combate a bactérias resistentes a antibióticos, sugerindo uma possível aplicação conjunta com medicamentos para tratar infecções desse tipo (Xu; Lee, 2001; Lim; Kim; Seo, 2007; Otsuka *et al.*, 2008; Burgos-Moron *et al.*, 2011). Assim como a quercetina, o kaempferol é também um flavonoide com baixa solubilidade em água, o que pode limitar sua aplicação (Deng *et al.*, 2019).

5. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Antioxidantes são ferramentas importantes no controle da oxidação lipídica, representando uma alternativa eficaz e econômica utilizada por fabricantes de alimentos para estabilizar os lipídios e prevenir a perda de qualidade dos produtos (Shahidi; Zhong, 2015). Além disso, oferecem benefícios medicinais, como a redução do risco de doenças, devido à sua capacidade de proteger o corpo contra danos oxidativos (Shahidi; Zhong, 2015). Eles atuam no sequestro de radicais livres, remoção de oxigênio singlete, inativação de peróxidos e outras espécies reativas de oxigênio, quelação de íons metálicos, neutralização de produtos de oxidação secundária, inibição de enzimas pró-oxidativas, entre outras funções (Shahidi; Zhong, 2007). O mecanismo de inibição de processos oxidativos ocorre de diversas maneiras, e essa diferença nas formas de ação é usada para classificar os antioxidantes em duas classes: primária e secundária (Shahidi; Zhong, 2015). A classe primária, que inclui tocoferóis e alguns compostos fenólicos, atua doando hidrogênio ou recebendo radicais livres, gerando radicais mais estáveis e inibindo a reação em cadeia da oxidação (Nawar, 1969). Já os antioxidantes secundários atuam na prevenção e diminuição da oxidação ao suprimir íons metálicos, oxigênio singlete, enzimas pró-oxidativas e outros oxidantes, além de reduzir peróxidos lipídicos e oxidantes por meio de reações redox, sendo conhecidos como sequestradores de oxigênio

(Shahidi; Zhong, 2010). Quando um composto fenólico doa um elétron, ele se torna um radical livre chamado semiquinona. Com a doação de um segundo elétron, ele transforma-se em uma quinona, que pode se unir a outros fenóis, formando uma semiquinona. A cadeia de geração de radicais livres pode ser interrompida quando dois radicais livres se combinam, formando uma ligação covalente. Na semiquinona, o elétron desemparelhado pode se mover para diferentes partes da molécula, gerando novas ligações e resultando em produtos diméricos. Se essa nova ligação ocorrer entre um dos carbonos do anel, o composto fenólico pode ser regenerado, o que o torna mais propenso a sofrer uma nova oxidação, em comparação com o composto original (Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, 1999). O mecanismo de ação antioxidante dos compostos fenólicos pode ser visualizado na Figura 10.

Figura 10 – Mecanismo de ação antioxidante dos compostos fenólicos



Fonte: (Tadapaneni, 2010)

A capacidade antioxidante em alimentos e sistemas biológicos é influenciada por diversos fatores, como as propriedades de partição dos antioxidantes entre as fases lipídicas e aquosas, as condições de oxidação e o estado físico do substrato oxidante (Frankel; Meyer, 2000).

6. CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS NATURAIS

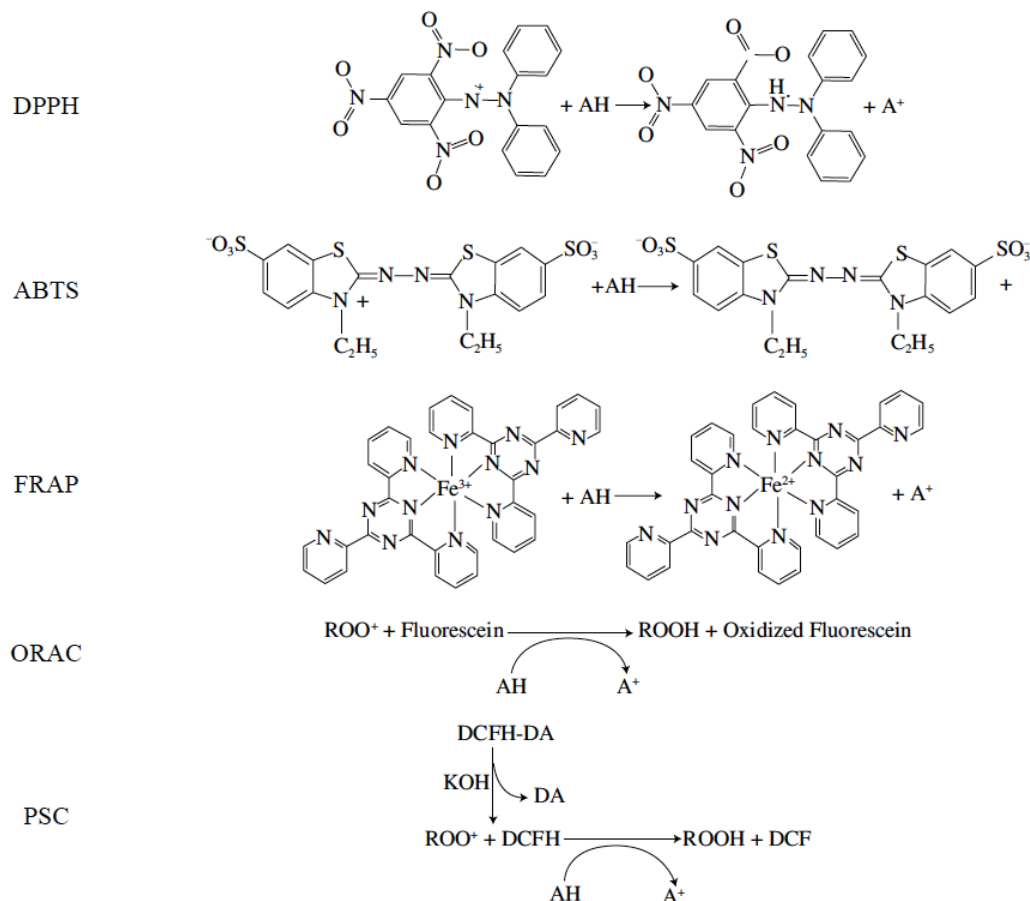
Para a caracterização de extratos naturais com o objetivo de obter compostos bioativos, diversas análises são comumente realizadas, incluindo a determinação de compostos fenólicos pela metodologia de Folin-Ciocalteu, a avaliação da atividade antioxidante utilizando os ensaios de ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)), DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila), capacidade de redução férrica (FRAP) ou capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC), e a cromatografia para análise do perfil de compostos fenólicos (Machado *et al.*, 2015; Viganó *et al.*, 2016a; Pereira *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2022; Viganó *et al.*, 2022;

Carvalho *et al.*, 2024; Mello; Malarski; Böhm, 2024; Ramírez-Brewer; Quintana-Martinez; García-Zapateiro, 2025).

Para determinação de fenólicos totais a metodologia de Folin-Ciocalteu, descrita por Singleton; Orthofer e Lamuela-Raventós (1999), é amplamente utilizada. Este ensaio baseia-se na transferência de elétrons, envolvendo uma reação entre os compostos fenólicos da amostra avaliada e o reagente Folin-Ciocalteu. Os compostos fenólicos reduzem os íons molibdênio presentes no reagente, de Mo^{6+} a Mo^{5+} , por doação de um elétron. A adição de um agente redutor, como o carbonato de sódio, resulta na formação de um complexo azulado, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de fenólicos da amostra. A quantificação é realizada por espectrofotometria a 765 nm (Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, 1999; Karadag; Ozcelik; Saner, 2009). O método é de simples aplicação, boa reprodutibilidade e robustez (Shahidi; Zhong, 2015). A capacidade antioxidante pode ser mensurada a partir de diversos métodos analíticos (Karadag; Ozcelik; Saner, 2009). Alguns desses métodos incluem a captura de radicais peroxila, (ORAC) (Ou *et al.*, 2013), a capacidade de redução de íons férricos (FRAP) (Benzie; Strain, 1996), a captura de radicais orgânicos (ABTS e DPPH) (Miller *et al.*, 1993; Rivero-Pérez; MUNiz; González-Sanjós, 2007), entre outras. No método ORAC, avalia-se a inibição da oxidação causada pelo radical peroxila, demonstrando a quebra de cadeia de radicais por transferência de átomos de hidrogênio (Ou; Hampsch-Woodill; Prior, 2001). Os radicais peroxila são formados pela decomposição térmica do reagente APPH e reagem com a fluoresceína, uma substância fluorescente que é oxidada na presença dos radicais, resultando na redução de sua fluorescência. A perda de fluorescência é quantificada (Cao; Alessio; Cutler, 1993; Ou *et al.*, 2013). O método ORAC é altamente recomendado por avaliar a ação antioxidante sobre radicais livres semelhantes aos produzidos no corpo humano (Lang *et al.*, 2024). Na metodologia de capacidade de redução férrica (FRAP), o agente antioxidante reduz um complexo férrico-tripiridiltriazina $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ a $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, gerando uma coloração azulada que é lida em espectrofotômetro a 593 nm (Liu *et al.*, 1982; Benzie, 1996). Quanto maior a absorbância, maior a capacidade antioxidante (Pulido; Bravo; Saura-Calixto, 2000). Importante ressaltar que esse método avalia apenas a capacidade de reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} sem correlação direta com a ação biológica, sendo interessante combiná-lo com outros métodos de análise (Lang *et al.*, 2024). O ensaio DPPH consiste na transformação do radical DPPH* para a forma não radical DPPH-H, por doação de hidrogênio do agente antioxidante. Essa reação é visível pela alteração da coloração de roxa para amarela, com redução da absorbância, que é medida a 517 nm (Lang *et al.*, 2024). Esse método tem limitações, sendo mais adequado para polifenóis de pequenas moléculas lipofílicas, não sendo eficaz para moléculas com pouca

ou nenhuma propriedade lipofílica (Lang *et al.*, 2024). A Figura 11 ilustra os mecanismos dos ensaios de atividade antioxidante descritos.

Figura 11 – Mecanismo dos ensaios de capacidade antioxidante de compostos fenólicos



Fonte: Adaptado de Lang *et al.* (2024).

7. CONCLUSÃO

O uso de plantas com fins medicinais é uma prática ancestral que acompanha a humanidade ao longo de sua história. Com os avanços tecnológicos, ficou evidente que os efeitos benéficos das plantas estão intimamente relacionados aos compostos bioativos que elas contêm, os quais podem ser extraídos por diferentes técnicas, desde os métodos convencionais até inovações emergentes. Essas novas abordagens não só melhoram a qualidade dos extratos, em termos maior recuperação dos compostos de interesse, mas também promovem processos mais sustentáveis, permitindo o uso de solventes como água e etanol.

Os compostos fenólicos, em particular, atraem grande interesse devido às suas diversas propriedades benéficas, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e um potencial significativo na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurodegenerativas,

diabetes, osteoporose, além de atuar no retardamento do envelhecimento. Embora já existam relatos na literatura sobre a presença desses compostos nas folhas de yacon, essa matéria-prima ainda foi pouco explorada, especialmente no que se refere à aplicação de tecnologias emergentes e à implementação de processos de extração sustentáveis. Assim, a produção de extratos a partir dessas metodologias inovadoras e sustentáveis, acompanhada pela caracterização dos compostos bioativos por meio de técnicas consolidadas na literatura, não só contribui para a popularização das folhas de yacon e seus constituintes, como também evidencia que as tecnologias sustentáveis de extração são capazes de fornecer extratos de alta qualidade, tanto em termos de compostos presentes quanto em suas ações bioativas.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, M. H.; ACREE JR, W. E. On the solubility of quercetin. **Journal of Molecular Liquids**, 197, p. 157-159, 2014.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current Research in Food Science**, 4, p. 200-214, 2021.
- ANDRADE, E. F. D.; DE SOUZA LEONE, R.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Industrial Crops and Products**, 62, p. 499-506, 2014.
- ANIYA, Y.; KOYAMA, T.; MIYAGI, C.; MIYAHIRA, M. *et al.* Free radical scavenging and hepatoprotective actions of the medicinal herb, *Crassocephalum crepidioides* from the Okinawa Islands. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 28, n. 1, p. 19-23, 2005.
- ARSHAD, R. N.; ABDUL-MALEK, Z.; MUNIR, A.; BUNTAT, Z. *et al.* Electrical systems for pulsed electric field applications in the food industry: An engineering perspective. **Trends in Food Science & Technology**, 104, p. 1-13, 2020.
- AYBAR, M. J.; RIERA, A. N. S.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 74, n. 2, p. 125-132, 2001.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. *et al.* Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of food engineering**, 117, n. 4, p. 426-436, 2013.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, 99, n. 1, p. 191-203, 2006.
- BELAY, A.; GHOLAP, A. Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, 3, n. 11, p. 234-240, 2009.

BENTZ, A. B. A Review of quercetin: chemistry, antioxidant properties, and bioavailability. **Journal of young investigators**, 2017.

BENZIE, I. F. An automated, specific, spectrophotometric method for measuring ascorbic acid in plasma (EFTSA). **Clinical biochemistry**, 29, n. 2, p. 111-116, 1996.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BERNHOF, A. A brief review on bioactive compounds in plants. *In: Bioactive compounds in plants-benefits and risks for man and animals*, 2010. v. 50, p. 11-17.

BONINA, F.; PUGLIA, C.; VENTURA, D.; AQUINO, R. *et al.* *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. **Journal of Cosmetic Science**, 53, n. 6, p. 321-336, 2002.

BOSQUE, H.; TRIGO, R.; MERCADO, G.; ROJAS, V. *et al.* Revalorización sostenible de la agrobiodiversidad a través de la gastronomía: la visión del proyecto LATINCROP. **Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales**, p. 214, 2016.

BURGOS-MORON, E.; PEREZ-GUERRERO, C.; LOPEZ-LAZARO, M.; CALDERON-MONTANO, J. A review on the dietary flavonoid kaempferol. **Mini Reviews Medicinal Chemistry**, 11, n. 4, p. 298-344, 2011.

CAETANO, B. F.; DE MOURA, N. A.; ALMEIDA, A. P.; DIAS, M. C. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a food supplement: Health-promoting benefits of fructooligosaccharides. **Nutrients**, 8, n. 7, p. 436, 2016.

CAMEL, V. Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. **Analyst**, 126, n. 7, p. 1182-1193, 2001.

CAO, G.; ALESSIO, H. M.; CUTLER, R. G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, 14, n. 3, p. 303-311, 1993.

CARVALHO, L. M. S.; OLIVEIRA, A. M. B.; GRIMALDI, R.; DE SOUZA, P. T. *et al.* Supercritical fluid and pressurized liquid extraction of spent tucumã-do-Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) almonds. **The Journal of Supercritical Fluids**, 209, p. 106238, 2024.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 79, n. 3, p. 362-372, 1999.

COLL ARÁOZ, M. V.; KORTSARZ GONZÁLEZ, A. M.; MERCADO, M. I.; PONESSA, G. I. *et al.* Ontogeny and total sugar content of yacon tuberous roots and other three *Smallanthus* species (Heliantheae, Asteraceae), insights on the development of a semi-domesticated crop. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 61, p. 163-172, 2014.

CRAVOTTO, G.; BOFFA, L.; MANTEGNA, S.; PEREGO, P. *et al.* Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. **Ultrasonics Sonochemistry**, 15, n. 5, p. 898-902, 2008.

CRUZ, P. N.; FETZER, D. L.; DO AMARAL, W.; DE ANDRADE, E. F. *et al.* Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂+ ethanol solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, 146, p. 55-64, 2019.

CUI, Y.; MORGENSTERN, H.; GREENLAND, S.; TASHKIN, D. P. *et al.* Dietary flavonoid intake and lung cancer—A population-based case-control study. **Cancer**, 112, n. 10, p. 2241-2248, 2008.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULO, R. *et al.* Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali-Istituto Superiore di Sanita**, 43, n. 4, p. 348, 2007.

DA SILVA, R. F.; CARNEIRO, C. N.; DE SOUSA, C. B. D. C.; GOMEZ, F. J. *et al.* Sustainable extraction bioactive compounds procedures in medicinal plants based on the principles of green analytical chemistry: A review. **Microchemical Journal**, 175, p. 107184, 2022.

DE CASTRO, M. L.; GARCIA-AYUSO, L. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, 369, n. 1-2, p. 1-10, 1998.

DE MELO, G. O.; MALVAR, D. D. C.; VANDERLINDE, F. A.; ROCHA, F. F. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. **Journal of Ethnopharmacology**, 124, n. 2, p. 228-232, 2009.

DEL CERRO, L. M.; REJAVINSKY, K. U.; PADILLA, I. B. Efecto normoglicemiante del tubérculo y la hoja del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en paciente diabéticos Tipo 2. **Horizonte Médico**, 4, n. 1, p. 54-65, 2004.

DELLA LOGGIA, R.; RAGAZZI, E.; TUBARO, A.; FASSINA, G. *et al.* Anti-inflammatory activity of benzopyrones that are inhibitors of cyclo- and lipo-oxygenase. **Pharmacological Research Communications**, 20, p. 91-94, 1988.

DENG, S.-P.; YANG, Y.-L.; CHENG, X.-X.; LI, W.-R. *et al.* Synthesis, spectroscopic study and radical scavenging activity of kaempferol derivatives: Enhanced water solubility and antioxidant activity. **International Journal of Molecular Sciences**, 20, n. 4, p. 975, 2019.

DOUGLAS, J.; DOUGLAS, M.; DEO, B.; FOLLETT, J. *et al.* Research and development of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) production in New Zealand. 2005.

ESPÍN, S.; VILLACRÉS, E.; BRITO GRANDES, B. Caracterización físico-química, nutricional y funcional de raíces y tubérculos andinos. 2004.

FILIPOVIĆ, M.; MARKOVIĆ, Z.; ĐOROVIĆ, J.; MARKOVIĆ, J. D. *et al.* QSAR of the free radical scavenging potency of selected hydroxybenzoic acids and simple phenolics. **Comptes Rendus. Chimie**, 18, n. 5, p. 492-498, 2015.

FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80, n. 13, p. 1925-1941, 2000.

GARCIA-CLOSAS, R.; GONZALEZ, C. A.; AGUDO, A.; RIBOLI, E. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. **Cancer Causes & Control**, 10, p. 71-75, 1999.

GARCIA-CLOSAS, R.; AGUDO, A.; GONZALEZ, C. A.; RIBOLI, E. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of lung cancer in women in Barcelona, Spain. **Nutrition and Cancer**, 32, n. 3, p. 154-158, 1998.

GATES, M. A.; TWOROGGER, S. S.; HECHT, J. L.; DE VIVO, I. *et al.* A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. **International Journal of Cancer**, 121, n. 10, p. 2225-2232, 2007.

GAUR, R.; SHARMA, A.; KHARE, S.; GUPTA, M. N. A novel process for extraction of edible oils: enzyme assisted three phase partitioning (EATPP). **Bioresource Technology**, 98, n. 3, p. 696-699, 2007.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). **Toxicology**, 217, n. 2-3, p. 213-220, 2006.

HERRERA, M.; DE CASTRO, M. L. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. **Journal of Chromatography A**, 1100, n. 1, p. 1-7, 2005.

HIBATALLAH, J.; CARDUNER, C.; POELMAN, M. C. In-vivo and in-vitro assessment of the free-radical-scavenger activity of *Ginkgo* flavonoid glycosides at high concentration. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 51, n. 12, p. 1435-1440, 1999.

HOLLMAN, P.; KATAN, M. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 51, n. 8, p. 305-310, 1997.

HONDO, M. Effects of activated carbon powder treatment on clarification, decolorization, deodorization and fructooligosaccharide content of yacon juice. Nippon Shokuhin. **Kagaku Kogaku Kaishi**, 47, p. 148-154, 2000.

INNOCENTI, G.; DALL'ACQUA, S.; SOSA, S.; ALTINIER, G. *et al.* Topical anti-inflammatory activity of *Solenostemma argel* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, 102, n. 2, p. 307-310, 2005.

INOUE, A.; TAMOGAMI, S.; KATO, H.; NAKAZATO, Y. *et al.* Antifungal melampolides from leaf extracts of *Smalanthus sonchifolius*. **Phytochemistry**, 39, n. 4, p. 845-848, 1995.

JEGANATHAN, B.; PUNYASIRI, P. N.; KOTTAWA-ARACHCHI, J. D.; RANATUNGA, M. A. *et al.* Genetic Variation of Flavonols Quercetin, Myricetin, and Kaempferol in the Sri Lankan Tea (*Camellia sinensis* L.) and Their Health-Promoting Aspects. **International Journal of Food Science**, 2016, n. 1, p. 6057434, 2016.

JIMÉNEZ, M. E.; SAMMÁN, N. Caracterización química y cuantificación de fructooligosacáridos, compuestos fenólicos y actividad antirradical de tubérculos y raíces andinos cultivados en el noroeste de Argentina. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)**, 64, n. 2, p. 131-138, 2014.

KAMPKÖTTER, A.; GOMBITANG NKWONKAM, C.; ZURAWSKI, R. F.; TIMPEL, C. *et al.* Effects of the flavonoids kaempferol and fisetin on thermotolerance, oxidative stress and FoxO transcription factor DAF-16 in the model organism *Caenorhabditis elegans*. **Archives of Toxicology**, 81, p. 849-858, 2007.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, 2, p. 41-60, 2009.

KHAJEHEI, F.; NIAKOUSARI, M.; SEIDI DAMYEH, M.; MERKT, N. *et al.* Impact of ohmic-assisted decoction on bioactive components extracted from yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp.) leaves: Comparison with conventional decoction. **Molecules**, 22, n. 12, p. 2043, 2017.

KHATAEI, M. M.; EPI, S. B. H.; LOOD, R.; SPÉGEL, P. *et al.* A review of green solvent extraction techniques and their use in antibiotic residue analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 209, p. 114487, 2022.

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A.; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, 18, n. 2, p. 2328-2375, 2013.

KIKUZAKI, H.; HISAMOTO, M.; HIROSE, K.; AKIYAMA, K. *et al.* Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, n. 7, p. 2161-2168, 2002.

KO, M.-J.; CHEIGH, C.-I.; CHO, S.-W.; CHUNG, M.-S. Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin. **Journal of Food Engineering**, 102, n. 4, p. 327-333, 2011.

KULBAT, K. The role of phenolic compounds in plant resistance. **Biotechnology and Food Science**, 80, n. 2, p. 97-108, 2016.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, 24, p. e00370, 2019.

LANG, Y.; GAO, N.; ZANG, Z.; MENG, X. *et al.* Classification and antioxidant assays of polyphenols: A review. **Journal of Future Foods**, 4, n. 3, p. 193-204, 2024.

LEFEBVRE, T.; DESTANDAU, E.; LESELLIER, E. Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. **Journal of Chromatography A**, 1635, p. 461770, 2021.

LEIDI, E. O.; ALTAMIRANO, A. M.; MERCADO, G.; RODRIGUEZ, J. P. *et al.* Andean roots and tubers crops as sources of functional foods. **Journal of Functional Foods**, 51, p. 86-93, 2018.

LI, D.; RUI, Y.-X.; GUO, S.-D.; LUAN, F. *et al.* Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives. **Life Sciences**, 284, p. 119921, 2021.

LIM, Y.-H.; KIM, I.-H.; SEO, J.-J. In vitro activity of kaempferol isolated from the *Impatiens balsamina* alone and in combination with erythromycin or clindamycin against *Propionibacterium acnes*. **The Journal of Microbiology**, 45, n. 5, p. 473-477, 2007.

LIN, F.; HASEGAWA, M.; KODAMA, O. Purification and identification of antimicrobial sesquiterpene lactones from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 67, n. 10, p. 2154-2159, 2003.

LIU, T. Z.; CHIN, N.; KISER, M.; BIGLER, W. Specific spectrophotometry of ascorbic acid in serum or plasma by use of ascorbate oxidase. **Clinical Chemistry**, 28, n. 11, p. 2225-2228, 1982.

MACHADO, A. P. D. F.; PASQUEL-REÁTEGUI, J. L.; BARBERO, G. F.; MARTÍNEZ, J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: a comparison with conventional methods. **Food Research International**, 77, p. 675-683, 2015.

MACHADO, T. O. X.; PORTUGAL, I.; DE A.C. KODEL, H.; FATHI, A. *et al.* Pressurized liquid extraction as an innovative high-yield greener technique for phenolic compounds recovery from grape pomace. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, 40, p. 101635, 2024.

MAGNANI, C.; ISAAC, V. L. B.; CORREA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. **Analytical methods**, 6, n. 10, p. 3203-3210, 2014.

MANCUSO, C.; SANTANGELO, R. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. **Food and Chemical Toxicology**, 65, p. 185-195, 2014.

MARTINS, N.; BARROS, L.; HENRIQUES, M.; SILVA, S. *et al.* Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. **Industrial Crops and Products**, 74, p. 648-670, 2015.

MASON, T. J. Uses of power ultrasound in chemistry and processing. **Applied Sonochemistry**, 2002.

MEDEIROS, K. C. D. P.; FAUSTINO, L.; BORDUCHI, E.; NASCIMENTO, R. *et al.* Preventive and curative glycoside kaempferol treatments attenuate the TH2-driven allergic airway disease. **International Immunopharmacology**, 9, n. 13-14, p. 1540-1548, 2009.

MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001–2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, 7, n. 4-5, p. 321-330, 2003.

MELLO, B. C. B. S.; MALARSKI, A.; BÖHM, V. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Pulp, Peel and Seeds from Jeriva (*Syagrus romanzoffiana*). **Antioxidants**, 13, n. 6, p. 711, 2024.

MENG, S.; CAO, J.; FENG, Q.; PENG, J. *et al.* Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013, n. 1, p. 801457, 2013.

MEYER, A. S.; DONOVAN, J. L.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. L. *et al.* Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46, n. 5, p. 1783-1787, 1998.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V. *et al.* A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science (London, England: 1979)**, 84, n. 4, p. 407-412, 1993.

MÖCKEL, H.; WELTER, G.; MELZER, H. Correlation between reversed-phase retention and solute molecular surface type and area: I. Theoretical outlines and retention of various hydrocarbon classes. **Journal of Chromatography A**, 388, p. 255-266, 1987.

MORALES-GONZALEZ, J. A. **Oxidative stress and chronic degenerative diseases: A role for antioxidants**. BoD–Books on Demand, 2013. 953511123X.

MOTA, F. L.; QUEIMADA, A. J.; PINHO, S. P.; MACEDO, E. A. Aqueous solubility of some natural phenolic compounds. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 47, n. 15, p. 5182-5189, 2008.

MUGHAL, A.; JABEEN, N.; ASHRAF, K.; SULTAN, K. *et al.* Exploring the Role of Caffeic Acid in Mitigating Abiotic Stresses in Plants: A Review. **Plant Stress**, p. 100487, 2024.

MUROTA, K.; TERAOKA, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 417, n. 1, p. 12-17, 2003.

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

NADAR, S. S.; RAO, P.; RATHOD, V. K. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. **Food Research International**, 108, p. 309-330, 2018.

NALIYADHARA, N.; KUMAR, A.; GIRISA, S.; DAIMARY, U. D. *et al.* Pulsed electric field (PEF): Avant-garde extraction escalation technology in food industry. **Trends in Food Science & Technology**, 122, p. 238-255, 2022.

NAVEED, M.; HEJAZI, V.; ABBAS, M.; KAMBOH, A. A. *et al.* Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 97, p. 67-74, 2018.

NAWAR, W. W. Thermal degradation of lipids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 17, n. 1, p. 18-21, 1969.

NÖTHLINGS, U.; MURPHY, S. P.; WILKENS, L. R.; HENDERSON, B. E. *et al.* Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study. **American Journal of Epidemiology**, 166, n. 8, p. 924-931, 2007.

OHYAMA, T.; ITO, O.; YASUYOSHI, S.; IKARASHI, T. *et al.* Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Soil Science and Plant Nutrition**, 36, n. 1, p. 167-171, 1990.

OLIVEIRA, A. M. B.; VIGANÓ, J.; SANCHES, V. L.; ROSTAGNO, M. A. *et al.* Extraction of potential bioactive compounds from industrial Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tan.) by-product using pressurized liquids and ultrasound-assisted extraction. **Food Research International**, 157, p. 111381, 2022.

OLIVEIRA, D. M. D.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, 34, p. 1051-1056, 2011.

OLIVEIRA, R. B.; CHAGAS-PAULA, D. A.; SECATTO, A.; GASPAROTO, T. H. *et al.* Topical anti-inflammatory activity of yacon leaf extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 23, n. 3, p. 497-505, 2013.

OTSUKA, N.; LIU, M.-H.; SHIOTA, S.; OGAWA, W. *et al.* Anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) compounds isolated from *Laurus nobilis*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 31, n. 9, p. 1794-1797, 2008.

OU, B.; CHANG, T.; HUANG, D.; PRIOR, R. L. Determination of total antioxidant capacity by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using fluorescein as the fluorescence probe: First action 2012.23. **Journal of AOAC International**, 96, n. 6, p. 1372-1376, 2013.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, n. 10, p. 4619-4626, 2001.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, 5, p. e47, 2016.

PAWLISZYN, J. Sample preparation: quo vadis? **Analytical Chemistry**, 75, n. 11, p. 2543-2558, 2003.

PEREIRA, D. T. V.; TARONE, A. G.; CAZARIN, C. B. B.; BARBERO, G. F. *et al.* Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. **Journal of Food Engineering**, 240, p. 105-113, 2019.

PIMPLEY, V.; PATIL, S.; SRINIVASAN, K.; DESAI, N. *et al.* The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, 50, n. 10, p. 969-978, 2020.

PRIEGO-CAPOTE, F. Solid-liquid extraction techniques. *In: Analytical sample preparation with nano-and other high-performance materials*: Elsevier, 2021. p. 111-130.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of agricultural and food chemistry**, 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

RAMÍREZ-BREWER, D.; QUINTANA-MARTINEZ, S. E.; GARCÍA-ZAPATEIRO, L. A. Obtaining and characterization of natural extracts from mango (*Mangifera Indica*) peel and its effect on the rheological behavior in new mango kernel starch hydrogels. **Food Chemistry**, 462, p. 140949, 2025.

RECHNER, A. R.; PANNALA, A. S.; RICE-EVANS, C. A. Caffeic acid derivatives in artichoke extract are metabolised to phenolic acids in vivo. **Free Radical Research**, 35, n. 2, p. 195-202, 2001.

RICE-EVANS, C. A.; PACKER, L. **Flavonoids in Health and Disease**. CRC Press, 2003. 143985811X.

RICHTER, B. E.; JONES, B. A.; EZZELL, J. L.; PORTER, N. L. *et al.* Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. **Analytical Chemistry**, 68, n. 6, p. 1033-1039, 1996.

RIVERO-PÉREZ, M. D.; MUNIZ, P.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, n. 14, p. 5476-5483, 2007.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, 19, n. 6, p. 402-420, 1996.

RUIZ-JIMÉNEZ, J.; PRIEGO-CAPOTE, F.; DE CASTRO, M. L. Identification and quantification of trans fatty acids in bakery products by gas chromatography–mass spectrometry after dynamic ultrasound-assisted extraction. **Journal of chromatography A**, 1045, n. 1-2, p. 203-210, 2004.

RUSSO, D.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; FERNANDEZ, E. C. *et al.* Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. **International Journal of Molecular Sciences**, 16, n. 8, p. 17696-17718, 2015.

SABATER-MOLINA, M.; LARQUÉ, E.; TORRELLA, F.; ZAMORA, S. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. **Journal of physiology and biochemistry**, 65, p. 315-328, 2009.

SAINI, N.; ANMOL, A.; KUMAR, S.; BAKSHI, M. *et al.* Exploring Phenolic Compounds as Natural Stress Alleviators in Plants-A Comprehensive Review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, p. 102383, 2024.

SANTANA, I.; CARDOSO, M. H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência Rural**, 38, p. 898-905, 2008.

SANZ, M.; FERRANDIZ, M.; CEJUDO, M.; TERCENIO, M. C. *et al.* Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress. **Xenobiotica**, 24, n. 7, p. 689-699, 1994.

SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K. *et al.* Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 8, n. 1, 2011.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C. *et al.* Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 45, n. 4, p. 287-306, 2005.

SCHORR, K.; MERFORT, I.; DA COSTA, F. B. A novel dimeric melampolide and further terpenoids from *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) and the inhibition of the transcription factor NF- κ B. **Natural Product Communications**, 2, n. 4, p. 1934578X0700200404, 2007.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity in food and biological systems. *In*: ACS Publications, 2007.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. **Chemical Society Reviews**, 39, n. 11, p. 4067-4079, 2010.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, 18, p. 757-781, 2015.

SIMONOVSKA, B.; VOVK, I.; ANDRENŠEK, S.; VALENTOVÁ, K. *et al.* Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography A**, 1016, n. 1, p. 89-98, 2003.

SINGH, R.; SARKER, B.; KUMBHAR, B.; AGRAWAL, Y. *et al.* Response surface analysis of enzyme assisted oil extraction factors for sesame, groundnut and sunflower seeds. **Journal of Food Science and Technology (Mysore)**, 36, n. 6, p. 511-514, 1999.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In*: **Methods in Enzymology**: Elsevier, 1999. v. 299, p. 152-178.

SMITH, R. M. Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. **Journal of chromatography A**, 1000, n. 1-2, p. 3-27, 2003.

SOXHLET, F. V. Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. **Polytechnisches Journal**, 232, n. 5, p. 461-465, 1879.

TADAPANENI, R. K. **Effect of High Pressure Processing & Dairy on the Antioxidant Activity of Strawberry Based Beverages**. 2010. -, Illinois Institute of Technology.

TOEPFL, S.; MATHYS, A.; HEINZ, V.; KNORR, D. Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. **Food Reviews International**, 22, n. 4, p. 405-423, 2006.

TOKITA, N.; NARAI-KANAYAMA, A.; KURITA, T.; IWASAKI, E. Effects of planting density and fertilizer type on growth and yield of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tubers. **Asian Journal of Plant Science & Research**, 2011.

TYLEWICZ, U. How does pulsed electric field work? *In: Pulsed electric fields to obtain healthier and sustainable food for tomorrow*: Elsevier, 2020. p. 3-21.

VALENTOVÁ, K.; MONCION, A.; DE WAZIERS, I.; ULRICHOVA, J. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts on rat hepatic metabolism. **Cell Biology and Toxicology**, 20, p. 109-120, 2004.

VALENTOVÁ, K.; ULRICHOVÁ, J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*-prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. **Biomedical Papers**, 147, n. 2, p. 119-130, 2003.

VANKAR, P. S. Essential oils and fragrances from natural sources. **Resonance**, 9, p. 30-41, 2004.

VENDITTI, A.; BIANCO, A.; FREZZA, C.; CONTI, F. *et al.* Essential oil composition, polar compounds, glandular trichomes and biological activity of *Hyssopus officinalis* subsp. *aristatus* (Godr.) Nyman from central Italy. **Industrial Crops and Products**, 77, p. 353-363, 2015.

VERMA, A. R.; VIJAYAKUMAR, M.; MATHELA, C. S.; RAO, C. V. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. **Food and Chemical Toxicology**, 47, n. 9, p. 2196-2201, 2009.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Springer Science & Business Media, 2007. 1402051646.

VIGANÓ, J.; AGUIAR, A. C.; MORAES, D. R.; JARA, J. L. *et al.* Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse. **Food Research International**, 85, p. 51-58, 2016a.

VIGANÓ, J.; BRUMER, I. Z.; DE CAMPOS BRAGA, P. A.; DA SILVA, J. K. *et al.* Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. **Food and Bioproducts Processing**, 100, p. 382-390, 2016b.

VIGANÓ, J.; DE AGUIAR, A. C.; VEGGI, P. C.; SANCHES, V. L. *et al.* Techno-economic evaluation for recovering phenolic compounds from acai (*Euterpe oleracea*) by-product by pressurized liquid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, 179, p. 105413, 2022.

VILLACRÉS, E.; RUBIO, A.; CUADRADO, L.; MARCIAL, N. *et al.* **Jicama: raiz andina con propiedades nutraceuticas**. 2007.

VINATORU, M.; TOMA, M.; RADU, O.; FILIP, P. *et al.* The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. **Ultrasonics Sonochemistry**, 4, n. 2, p. 135-139, 1997.

VIŠNJEVEC, A. M.; BARP, L.; LUCCI, P.; MORET, S. Pressurized liquid extraction for the determination of bioactive compounds in plants with emphasis on phenolics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, p. 117620, 2024.

WALDEBÄCK, M. **Pressurized fluid extraction: a sustainable technique with added values**. 2005. -, Acta Universitatis Upsaliensis.

WANG, X.; CHEN, Q.; LÜ, X. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. **Food Hydrocolloids**, 38, p. 129-137, 2014.

WEN, C.; ZHANG, J.; ZHANG, H.; DZAH, C. S. *et al.* Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops—A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, 48, p. 538-549, 2018.

XU, H. X.; LEE, S. F. Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, 15, n. 1, p. 39-43, 2001.

YANG, C. S.; LEE, M.-J.; CHEN, L.; YANG, G.-Y. Polyphenols as inhibitors of carcinogenesis. **Environmental Health Perspectives**, 105, n. suppl 4, p. 971-976, 1997.

ZDUŃSKA, K.; DANA, A.; KOŁODZIEJCZAK, A.; ROTSZTEJN, H. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. **Skin pharmacology and physiology**, 31, n. 6, p. 332-336, 2018.

ZHANG, L.; CHANG, C.; LIU, Y.; CHEN, Z. Effect of chlorogenic acid on disordered glucose and lipid metabolism in db/db mice and its mechanism. **Zhongguo yi xue ke xue Yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae**, 33, n. 3, p. 281-286, 2011.

ZHENG, Y.-Z.; CHEN, D.-F.; DENG, G.; GUO, R. *et al.* The antioxidative activity of piceatannol and its different derivatives: Antioxidative mechanism analysis. **Phytochemistry**, 156, p. 184-192, 2018.

ZHENG, Y.-Z.; DENG, G.; CHEN, D.-F.; GUO, R. *et al.* The influence of C2=C3 double bond on the antiradical activity of flavonoid: Different mechanisms analysis. **Phytochemistry**, 157, p. 1-7, 2019.

ZIMMERMANN, U.; PILWAT, G.; RIEMANN, F. Dielectric breakdown of cell membranes. **Biophysical journal**, 14, n. 11, p. 881-899, 1974.

**CAPÍTULO 2 - OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS
DE YACON POR LÍQUIDO PRESSURIZADO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE
SOLVENTE E DE TEMPERATURA**

Formatado para submeter à revista Food Research International

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar extratos obtidos a partir de folhas de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) utilizando a Extração com Líquido Pressurizado (PLE) e Extração com Água Subcrítica, tecnologias emergentes que visam a produção eficiente e sustentável de extratos. Folhas secas e trituradas de yacon foram utilizadas como matéria-prima. As extrações foram realizadas variando-se os solventes (água, etanol 25%, 50%, 75% e 100%) e as temperaturas (60, 90 e 120 °C), com adicionais para água em 110, 130 e 150 °C. Os extratos obtidos foram avaliados quanto ao rendimento global, conteúdo de fenólicos totais pelo método de Folin Ciocalteu, identificação e quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a um detector de matriz de fotodiodos acoplado à espectrometria de massa (UPLC-PDA-MS), capacidade antioxidante pelos métodos de capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) e capacidade de redução férrica (FRAP), teor de proteínas pelo método de Bradford, atividade anti-inflamatória *in vitro* e atividade antimicrobiana. A técnica PLE foi comparada com o método convencional de extração a baixa pressão, Soxhlet, que opera na temperatura do ponto de ebulição do solvente, enquanto a PLE permite o uso de temperaturas superiores ao ponto de ebulição do solvente, mantendo-o no estado líquido por meio da pressurização. Os resultados demonstraram que o aumento da temperatura e a fração alcoólica de até 50% proporcionaram maiores rendimentos, uma maior recuperação de compostos fenólicos e uma maior capacidade antioxidante, com forte correlação positiva entre fenólicos totais e capacidade antioxidante. Dentre os principais compostos fenólicos identificados na análise cromatográfica, destacam-se o ácido cafeico, o ácido glucárico, quercetina-O-hexosídeo e derivados de kaempferol. Cinco extratos apresentaram atividade anti-inflamatória. Quanto à atividade antimicrobiana, foi observada inibição de *Lactococcus lactis* ATCC 19435, evidenciando concentrações mínimas inibitórias. Além disso, foi registrado efeito anti-*quorum sensing* sobre *Cromobacterium violaceum*. Os resultados indicam que as folhas de yacon possuem propriedades promissoras para aplicação em indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, e que a técnica PLE é uma tecnologia promissora para obtenção de compostos bioativos de interesse.

Palavras-chave: Extração com líquido pressurizado (PLE), Atividade antioxidante, Compostos bioativos, Sustentabilidade, *Smallanthus sonchifolius*

ABSTRACT

This work aimed to evaluate extracts obtained from yacon leaves (*Smallanthus sonchifolius*) using Pressurized Liquid Extraction (PLE) and Subcritical Water Extraction, emerging technologies aimed at the efficient and sustainable production of extracts. Dried and crushed yacon leaves were used as the raw material. Extractions were carried out by varying the solvents (water, ethanol 25%, 50%, 75% and 100%) and temperatures (60, 90 and 120 °C), with additional ones for water at 110, 130 and 150 °C. The extracts obtained were evaluated for overall yield, total phenolic content using the Folin Ciocalteu method, identification and quantification of phenolic compounds by ultra-performance liquid chromatography coupled with a photodiode array detector coupled with mass spectrometry (UPLC-PDA-MS), antioxidant capacity using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing capacity (FRAP) methods, protein content using the Bradford method, in vitro anti-inflammatory activity and antimicrobial activity. The PLE technique was compared with the conventional low-pressure extraction method, Soxhlet, which operates at the temperature of the solvent's boiling point, while PLE allows the use of temperatures higher than the solvent's boiling point, keeping it in a liquid state through pressurization. The results showed that increasing the temperature and the alcohol fraction up to 50% provided higher yields, a greater recovery of phenolic compounds and a higher antioxidant capacity, with a strong positive correlation between total phenolics and antioxidant capacity. Among the main phenolic compounds identified in the chromatographic analysis were caffeic acid, glucaric acid, quercetin-O-hexoside and kaempferol derivatives. Five extracts showed anti-inflammatory activity. In terms of antimicrobial activity, inhibition of *Lactococcus lactis* ATCC 19435 was observed, with minimum inhibitory concentrations. In addition, an anti-quorum sensing effect was recorded on *Chromobacterium violaceum*. The results indicate that yacon leaves have promising properties for application in the food, pharmaceutical and cosmetics industries, and that the PLE technique is a promising technology for obtaining bioactive compounds of interest.

Keywords: Pressurized Liquid Extraction (PLE), Antioxidant activity, Bioactive compounds, Sustainability, *Smallanthus sonchifolius*

1. INTRODUÇÃO

Smallanthus sonchifolius, popularmente conhecida como yacon, é uma planta nativa dos Andes, cultivada em diferentes países tanto como fonte alimentar quanto medicinal. A planta é rica em oligofrutanos e polifenóis, sendo os extratos de suas folhas reconhecidos por produzir efeitos antidiabéticos (Ohyama *et al.*, 1990; Hondo, 2000; Aybar *et al.*, 2001). Além disso, pesquisas demonstraram que esses extratos possuem atividades fitoquímicas, como antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante (Inoue *et al.*, 1995; Joung *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2013; Andrade *et al.*, 2014).

As folhas e caules contêm compostos fenólicos com forte atividade antioxidante (Duarte; Wolf; Paula, 2008), demonstrando potencial na prevenção de doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo, como diabetes do tipo II e arteriosclerose (Valentova *et al.*, 2003; Valentová *et al.*, 2004; Valentová; Šeršeň; Ulrichová, 2005; Terada *et al.*, 2006). Embora a raiz tuberosa, conhecida como batata yacon ou batata do diabético, seja o foco da produção e comercialização, as folhas também são comercializadas desidratadas e preparadas em forma de chá, sendo utilizadas como coadjuvantes no tratamento do diabetes, controle da pressão arterial e redução dos níveis de colesterol (Duarte; Wolf; Paula, 2008). Avaliar os extratos produzidos a partir dessas folhas secas é essencial para compreender a preservação dos compostos ativos e sua bioatividade.

Nas plantas, os compostos fenólicos fazem parte dos metabólitos secundários atuando como proteção contra doenças causadas por insetos e microrganismos, dentre outras funções como defesa ao estresse hídrico, nutricional e ambiental. A possível presença de atividades antioxidantes, antimicrobianos e anti-inflamatórias nesses compostos tem sido amplamente estudada, com vistas à aplicação em indústrias alimentícia e farmacêutica (Generalic Mekinić *et al.*, 2019; Šimat *et al.*, 2024). Em um cenário no qual diversos microrganismos podem causar infecções e intoxicações, a crescente resistência microbiana em patógenos representa um grande desafio a ser superado (Hara-Kudo; Takatori, 2011; McEwen; Collignon, 2018). A multirresistência microbiana desponta como uma das principais ameaças à saúde pública do século XXI, com estimativas indicando que, em 2019, 4,95 milhões de pessoas morreram em decorrência desse problema (Murray *et al.*, 2022).

Para extração de compostos bioativos, existem métodos não convencionais que melhoram a eficiência do processo, reduzem o tempo e consumo de solvente, como a extração assistida por ultrassom (UAE), campo elétrico pulsado (PEF), extração assistida por enzimas (EAE), extração assistida por micro-ondas (MAE), extração com fluido supercrítico (SFE) e a extração com líquido pressurizado (PLE) (Višnjevec *et al.*, 2024). A PLE utiliza temperaturas

variando de 50 a 200 °C, e opera acima do ponto de ebulição do solvente, mantendo-o em estado líquido em função da alta pressão do sistema (Ramos; Kristenson; Brinkman, 2002; Višnjevec *et al.*, 2024). A mesma tecnologia de PLE pode ser empregada para a extração com água subcrítica (SWE), utilizando água como solvente (Višnjevec *et al.*, 2024). As altas temperaturas, possibilitadas pelos métodos, reduzem a viscosidade e a tensão superficial do solvente, facilitando a difusão na amostra e diminuindo a interação entre os compostos de interesse e a matriz (Ramos; Kristenson; Brinkman, 2002). Isso promove uma melhor transferência de massa, menor volume de solvente, menor tempo de processamento e aumento do rendimento (Lefebvre; Destandau; Lesellier, 2021; Višnjevec *et al.*, 2024).

Assim, este projeto teve como objetivo obter extratos de folhas de yacon utilizando a técnica de PLE sob diferentes combinações de temperatura e solvente, e caracterizá-los quanto ao seu potencial bioativo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARO DA AMOSTRA

Embalagens plásticas seladas contendo 30 g de folhas secas de *Smallanthus sonchifolius* (yacon), comercializadas para preparo de chás, foram adquiridas por e-commerce. De acordo com o fabricante, as folhas foram desidratadas a 40 °C por um período de 3 a 5 dias, como forma de preservar os constituintes bioativos da planta.

As folhas foram trituradas em um moinho de facas, homogeneizadas em um único lote e fracionadas em embalagens plásticas seladas a vácuo, envoltas em papel alumínio e armazenadas a -18 °C até o uso.

As folhas frescas apresentavam teor de cinzas de 83,0±2,0% (método 972.15) (AOAC, 1997), e, umidade de 8,0±0,5% (método 931.04) (AOAC, 1997).

2.2 EXTRAÇÃO POR LÍQUIDO PRESSURIZADO

A PLE foi conduzida como descrito por Moreno *et al.* (2025), com adaptações. A Figura 1 apresenta um diagrama esquemático do sistema de extração.

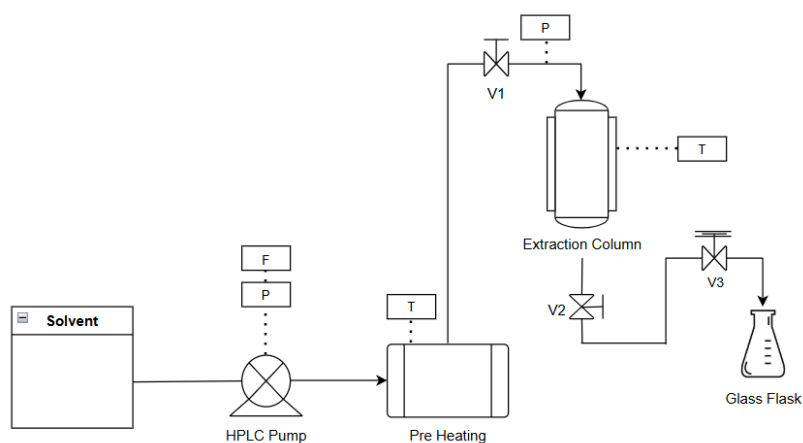


Figura 1. Diagrama esquemático de PLE

V1 e V2: válvulas de bloqueio; V3: válvula micrométrica; F: Controle de vazão; P: sensor de pressão; T: sensor de temperatura.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

O método de extração dinâmica foi aplicado em PLE utilizando misturas hidroalcoólicas e etanol 100% como solventes. A uma coluna de aço inoxidável de 50 cm³, foram adicionados 4,0 g de matéria-prima, formando um leito fixo. Para reduzir o volume vazio da coluna, duas camadas de algodão foram intercaladas com uma camada de pérolas de vidro na parte inferior da célula de extração. A matéria-prima foi então adicionada sobre essa camada e coberta por uma última camada superior de algodão. O solvente foi bombeado por uma bomba HPLC (Jasco, model PU2080), através de um banho termostático para atingir a temperatura desejada e, em seguida, permeou a célula de extração, que estava envolvida por uma camisa térmica, contendo as folhas secas dispostas no leito fixo. O solvente foi bombeado em taxa mássica constante de 3,0 g/min, que resultou em taxas volumétricas apresentadas na Tabela 1.

Os fatores avaliados na extração foram o solvente e a temperatura. A seleção das condições de solvente e temperaturas foi baseada em estudos anteriores que utilizaram a técnica de PLE para obtenção de extratos ricos em fenólicos com atividade antioxidante (Aliakbarian et al., 2012; Oliveira et al., 2022; Viganó et al., 2022). As condições de extração estão detalhadas na Tabela 1, conduzidas em pressão constante de $10 \pm 0,5$ MPa por 60 min, tempo definido com base na cinética de extração (item 2.4). Os extratos foram coletados em frascos de vidro e armazenados a -18 °C, protegidos da luz, para as análises subsequentes. As extrações em todas as condições foram realizadas em duplicata.

Tabela 1. Condições experimentais da PLE

Solvente	Temperatura (°C)			Vazão volumétrica (mL/min)
Água + Etanol (25%, v/v)	60	90	120	3,2
Água + Etanol (50%, v/v)	60	90	120	3,3
Água + Etanol (75%, v/v)	60	90	120	3,52
100% Etanol	60	90	120	3,82

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

2.3 EXTRAÇÃO COM ÁGUA SUBCRÍTICA

As extrações com água subcrítica (SWE) foram conduzidas utilizando o mesmo equipamento e protocolo descritos no item 2.2. para a PLE. Para cada experimento, similarmente, 4,0 g de matéria-prima foram adicionados a uma coluna de aço inoxidável de 50 cm³, formando um leito fixo. Água destilada foi bombeada por uma bomba HPLC (Jasco, model PU2080) e aquecida em um banho termostático até atingir a temperatura desejada. Em seguida, a água permeou a célula de extração, envolvida por uma camisa térmica, contendo as folhas secas dispostas no leito fixo. A taxa mássica constante de 3,0 g/min, equivale à taxa volumétrica de 3,0 mL/min de água, sendo mantida nas temperaturas de 60, 90, 110, 120, 130 e 150 °C. As extrações ocorreram sob pressão constante de $10 \pm 0,5$ MPa por 60 min, duração esta determinada com base na cinética de extração descrita no item 2.2. Os extratos foram coletados em frascos de vidro e armazenados a -18 °C, protegidos da luz, para as análises subsequentes. Todas as condições experimentais foram realizadas em duplicata.

2.4 CINÉTICA E MODELAGEM PLE

Os experimentos de cinética de PLE foram conduzidos a partir de 4 g de amostra seca e triturada, utilizando etanol 75% como solvente, sob pressão fixa de 10 MPa, temperatura de 90 °C e vazão de solvente de 3,52 mL/min, com objetivo de determinar o tempo de extração mais apropriado para o processo. A escolha do solvente e da temperatura para a cinética baseou-se em condições otimizadas para a extração de compostos fenólicos em estudos anteriores (Viganó *et al.*, 2016b; Barrales *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2022). Os extratos foram coletados nos

tempos de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90 e 120 min. Os volumes de cada amostra foram medidos e o teor de compostos fenólicos foi quantificado pelo método de Folin-Ciocalteu, como descrito no item 2.5.2. As extrações foram conduzidas em duplicata e as análises de fenólicos foram realizadas em triplicata. A curva de extração foi obtida pela plotagem de concentração de fenólicos em função do tempo de extração.

O modelo de *Spline* de 3 linhas, conforme demonstrado nas Eqs. 1 a 3, foi ajustado aos dados experimentais utilizando o procedimento PROC NLIN do SAS University Edition software (Rodrigues *et al.*, 2003). Cada linha ajustada representa um estágio da extração, relacionado à transferência de massa: taxa constante de extração (CER), diminuição da taxa de extração (FER) e períodos controlados por difusão (DC) (Meireles, 2008).

$$Y = b_0 + b_1t \quad \text{para } t \leq \text{CER} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$Y = b_0 - t\text{CER}b_2 + b_1t + b_2t \quad \text{para } t\text{CER} < t \leq \text{FER} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$Y = b_0 - t\text{CER}b_2 - t\text{FER}b_3 + b_1t + b_2t + b_3t \quad \text{para } t\text{FER} < t \quad (\text{Eq. 3})$$

Nas quais, Y representa a variável de resposta (concentração de fenólicos; mg GAE/g); b_i ($i = 0, 1, 2, 3$) são os coeficientes lineares das linhas; t é o tempo (min); $t\text{CER}$ é o tempo de CER (min); e $t\text{FER}$ é o tempo de FER (min). Após o ajuste dos parâmetros, a concentração de fenólicos em $t\text{CER}$ e $t\text{FER}$ foi calculada através da Eq. (3) ($Y\text{CER}$ e $Y\text{FER}$). Posteriormente, a Eq. (4) foi aplicada para calcular a recuperação (R) de fenólicos em 120 min a partir de $Y\text{CER}$ e $Y\text{FER}$.

$$R(\%) = \frac{y_x}{y_{120}} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

Em que y_x representa a concentração de fenólicos no tempo t , seja $t\text{CER}$ ou $t\text{FER}$, e y_{120} a resposta no tempo de 120 min de extração.

2.5 EXTRAÇÃO POR SOXHLET

As extrações por Soxhlet foram realizadas de acordo com a metodologia da AOAC (AOAC, 2000), utilizando-se 5 g de amostra e 150 mL de solvente por 6 h. Foram realizadas extrações com etanol 100% e água. O processo foi conduzido em duplicata.

2.6 AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS

2.6.1 Rendimento global

Para cada extrato, uma alíquota de 5 mL foi coletada e armazenada em frascos previamente identificados, secos e pesados. Os frascos contendo as alíquotas foram mantidos em estufa a 60 °C até atingir massa constante. Em seguida, foram resfriados em dessecador e pesados novamente, sendo subtraída a massa dos frascos vazios e secos. O valor obtido foi dividido pelo volume da alíquota e multiplicado pelo volume total de extrato produzido. Com isso, foi calculado o rendimento de extração para as diferentes condições de extração. A Eq. 5 apresenta o cálculo do rendimento global (X_0), na qual m_{ext} representa a massa total de extrato seco e F refere-se à massa de matéria-prima seca utilizada na extração (% m/m) (Viganó *et al.*, 2022). O procedimento foi realizado em triplicata.

$$X_0 = \frac{m_{ext}}{F} \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

2.6.2 Fenólicos totais

A concentração de fenólicos totais (FT) foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, 1999) com adaptações. Os extratos foram diluídos em água destilada. Em cada poço de uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 20 µL de amostra, branco ou padrão, acrescidos de 140 µL de água destilada e 20 µL do reagente Folin-Ciocalteu (Dinâmica, Brasil). A mistura foi incubada à temperatura ambiente por 3 min. Posteriormente, 20 µL de solução saturada de carbonato de sódio (Synth, Brasil) foram adicionados e a mistura incubada por 120 min à temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 725 nm usando o leitor de microplacas FLUOstar Omega (BMG LABTECH GmbH, Alemanha), com análise realizada pelo software Omega Mars 5.50R4. A curva padrão foi construída utilizando ácido gálico (Sigma-Aldrich, EUA) em concentrações variando de 0,02 a 0,20 mg/mL. O procedimento foi realizado em triplicata e os resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico por g de matéria-prima seca (mg GAE/g drm).

2.6.2.1 Identificação e quantificação de compostos fenólicos

A identificação e quantificação de compostos fenólicos foi realizada por cromatografia líquida de ultra performance acoplada a um detector de arranjo de fotodiodos (UPLC-PDA, Waters Corp, Acquity H-Class, Milford, Massachusetts, EUA) e espectrometria de massa (Thermo Fisher Scientific LTQ XL linear ion trap mass spectrometer, San Jose, California, EUA). Antes da injeção, todos os extratos foram centrifugados, diluídos duas vezes em água e

filtrados em filtro de nylon de 0,22 μm . As fases móveis consistiram em água (A) e acetonitrila (B), ambas acidificadas com ácido acético a 0,1% (v/v). O volume de injeção foi de 5 μL e a temperatura da coluna foi de 40 °C. O gradiente de eluição foi efetuado de acordo com as seguintes condições: 0–1 min, 95,0% A; 1–10 min, 95,0–65,0% A, 10–11 min, 65,0–0,0% A; 11–12 min, 0,0% A; 13–14 min, 0,0–95,0% A e 14,0–17,0 min, 95,0% A. A leitura foi registrada de 200 a 400 nm com λ_{max} de 254 nm. A análise de espectrometria de massas foi realizada em modo de ionização positiva e negativa (100–600 Da) com tensão de cone de 15 V e 30 V, respectivamente, tensão capilar de 0,8 kV e sonda a 600 °C. Para o processamento dos dados, foi utilizado o software Empower 3 (Waters Alliance, Milford, MA, EUA). Os resultados foram comparados e confrontados com dado da literatura para identificação dos potenciais compostos de cada pico. A curva de calibração foi obtida com sete concentrações de padrão de ácido cafeico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) vs. área dos respectivos picos cromatográficos. As concentrações de cada composto foram calculadas com base em equivalente de ácido cafeico ($y = 6945,8x + 178835$; $R^2 = 0,9877$). Microsoft Office Excel 2016 foi utilizado para os cálculos (Microsoft, WA, EUA).

2.6.3 Capacidade antioxidante

2.6.3.1 Capacidade de Redução Férrica (FRAP)

A capacidade de redução férrica (FRAP) foi determinada conforme descrito por Benzie e Strain (1996), com adaptações. Os extratos foram diluídos com água destilada. O reagente FRAP, constituído de 20 mL de tampão acetato de sódio a 0,3 M, 2 mL de uma solução de 2,4,6-tris(2-pyridyl)s-triazine (TPTZ; Sigma-Aldrich, EUA) a 10 mM em HCl a 40 mM, e 2 mL de cloreto férrico (Dinâmica, Brasil) a 20 mM, foi preparado imediatamente antes do início do ensaio. O reagente foi mantido em banho termostato a 37 °C até o momento do uso. Em cada poço de uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 25 μL de amostra, branco ou padrão, acrescido de 175 μL de reagente FRAP. A mistura foi incubada a 37 °C por 30 min em leitor de microplacas FLUOstar Omega. A absorbância foi então medida a 595 nm e os resultados analisados utilizando o software Omega Mars 5.50R4. A curva padrão foi elaborada utilizando-se ácido 6-hidroxi-2,5,7,7-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox; Sigma-Aldrich, EUA) com concentrações variando de 0,01 a 0,06 mg/mL. O procedimento foi realizado em triplicata e os resultados expressos em mg de equivalente de Trolox por g de matéria-prima seca (mg TE/g drm).

2.6.3.2 Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio

A capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) foi determinada de acordo com Ou *et al.* (2013), com adaptações. Tampão de fosfato de potássio a 75 mM foi utilizado como branco e diluente dos extratos. Em cada poço de uma microplaca de 96 poços preta foram adicionados 25 µL de amostra, branco ou padrão e 150 µL de solução de fluoresceína (Sigma-Aldrich, EUA) a 0,000041 mg/mL. Um poço adicional foi preenchido com 200 µL da solução de fluoresceína, servindo como um dos controles. A placa foi incubada a 37 °C por 15 min no leitor de microplacas FLUOstar Omega. Após a incubação, 25 µL de solução de 2,2'-azobis(2-methylpropionamidine)dihydrochloride (APPH; Sigma-Aldrich Chemical Co, EUA) a 0,041 g/mL foram adicionados em cada poço. Um segundo poço controle foi preenchido apenas com 200 µL da solução de APPH. A diminuição da fluorescência (excitação a 485 nm; emissão a 510 nm) foi monitorada durante 100 min em leitor de microplacas FLUOstar Omega com análise pelo software Omega Mars 5.50R4. A curva padrão foi elaborada utilizando Trolox em concentrações variando de 5 a 25 µg/mL, preparado em tampão fosfato de potássio. O procedimento foi realizado em triplicata, e os resultados foram expressos em mg de equivalente de Trolox por g de matéria-prima seca (mg TE/g drm).

2.6.4 Teor de proteínas

O teor de proteínas dos extratos foi determinado de acordo com metodologia descrita por Bradford (1976), com adaptações. O corante Bio-Rad Protein Assay Dye Reagent Concentrate (BIO-RAD, EUA) foi diluído a 25% (v/v) em água destilada e filtrado utilizando filtro Whatman nº 1. Em tubos de ensaio, foram adicionados 100 µL de amostra, branco ou padrão, acrescidos de 5 mL do corante diluído. As amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 5 min. Por fim, a absorbância foi medida a 595 nm utilizando um espectrofotômetro (KASUAKI, Japão). A curva padrão foi elaborada utilizando albumina sérica bovina (BSA; Sigma-Aldrich, EUA) em concentrações variando de 0,2 a 1,2 mg/mL ($y = 0,7485x + 0,0015$; $R^2 = 0,9928$). Os testes foram realizados em duplicata e os resultados expressos em mg de equivalente de BSA por g de matéria-prima seca (mg BSA/drm).

2.6.5 Atividade anti-inflamatória *in vitro*

O método *in vitro* de desnaturação de proteínas foi empregado para avaliar a capacidade anti-inflamatória dos extratos, de acordo com a metodologia descrita por Divya *et al.* (2023), com adaptações. A reação foi preparada adicionando-se 1 mL de extrato, 1,4 mL de tampão fosfato salino (pH 6,4) e 0,2 mL de clara de ovo fresca. Como controle foram utilizados os

respectivos solventes de extração, etanol a 25%, 50%, 75% e 100%, e, água destilada. Para o controle branco, foi utilizado tampão fosfato salino, enquanto diclofenaco de sódio a 100 µg/mL (Medley, Brasil) foi empregado como controle positivo. As absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro (KASUAKI, Japão) a 660 nm. As análises foram feitas em duplicata. A porcentagem de inibição de desnaturação da proteína foi calculada pela fórmula demonstrada na Eq. 6.

$$\% \text{ inibição} = \frac{A_c - A_t}{A_c} \quad (\text{Eq. 6})$$

Na qual A_c refere-se à absorvância do controle e A_t é a absorvância do teste com os extratos.

2.6.6 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi avaliada por meio do método de difusão em ágar (Devillers; Steiman; Seigle-Murandi, 1989). *Lactococcus lactis* ATCC 19435 foi inicialmente ativado pela adição de 100 µL de cultura estoque em 10 mL de caldo M17 acrescido de 5 g/L de glicose (GM17), seguida de incubação a 30 °C por 24 h. As placas foram preparadas utilizando-se uma mistura de 20 mL de GM17 contendo 1,5% de ágar bacteriológico e 100 µL do inóculo. Após a solidificação, furos de 0,5 cm de diâmetro foram feitos utilizando-se uma ponteira estéril. Em cada poço foram adicionados 50 µL dos extratos. As placas foram armazenadas sob refrigeração para difusão completa dos extratos e, em seguida, incubadas a 30 °C por 24 h. Após o período de incubação, os halos de inibição formados ao redor dos poços foram medidos. Os testes foram realizados em duplicata.

2.6.7 Ensaio de concentração mínima inibitória (CMI)

Para determinar a concentração mínima inibitória (CMI) dos extratos, 200 µL de caldo GM17 suplementados com diferentes concentrações dos extratos (25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56, 0,78 e 0,39 mg/mL) foram transferidos para microplacas de poliestireno contendo 96 poços e inoculados com, aproximadamente, 5×10^5 UFC/mL (densidade ótica a 600 nm de 0,1) de *L. lactis*, previamente cultivados em caldo GM17 sem a presença dos extratos de folhas de yacon por 24 h a 30 °C. Tratamentos controle foram realizados inoculando-se *L. lactis* em caldo GM17 adicionados dos respectivos solventes de extração em substituição aos extratos e *L. lactis* inoculado apenas em caldo GM17. A concentração mínima capaz de impedir a turvação do meio após 20 h de incubação a 30 °C foi considerada como valor de CMI.

2.6.8 Atividade anti-*quorum sensing*

Chromobacterium violaceum ATCC 6357 foi cultivado a 30 °C em caldo Luria Bertani (LB). A atividade anti-*quorum sensing* dos extratos foi determinada por meio de ensaio de difusão em ágar conforme Tan; Yin e Chan (2012), com modificações. Alíquotas de 100 µL de inóculo foram misturadas a 20 mL de caldo LB contendo 1,5% de ágar bacteriológico em placas de Petri estéreis. Após a solidificação, poços de 5 mm foram feitos com o uso de ponteiros estéreis. Para cada poço, foram adicionados 50 µL de dos extratos concentrados (0,1 g de sólidos/mL), bem como das diluições de 0,05 g/mL e 0,025 g/mL. As placas foram mantidas sob refrigeração para difusão dos extratos e, então, incubadas a 30 °C por 24 h. Caldo LB estéril, os diferentes solventes utilizados na extração e 2(5H)-Furanone 98% (Sigma Aldrich, EUA) foram usados como controles. A atividade inibitória do *quorum sensing* em *C. violaceum* foi verificada pela formação de um halo turvo, indicado pelo crescimento bacteriano, sem produção de pigmento ao redor do poço, sobre um fundo roxo na placa. Os testes foram realizados em duplicata.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância (ANOVA). Diferenças significativas foram determinadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Para avaliar a correlação entre FT e as capacidades antioxidantes mensuradas por FRAP e ORAC, foi aplicado o teste de correlação de Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CINÉTICA E MODELAGEM

A cinética de extração foi estudada utilizando etanol 75% (v/v) como solvente, sob temperatura de 90 °C e vazão de solvente de 3,52 mL/min. A Figura 2 apresenta a cinética de PLE, com os dados experimentais ajustados ao modelo *Spline* de três retas.

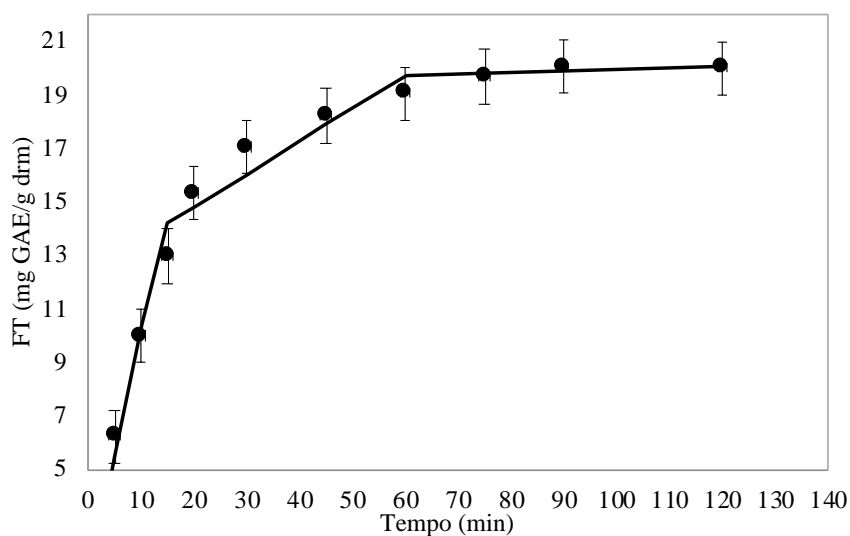


Figura 2. Curva de concentração de fenólicos totais (FT) a partir de extração por líquido pressurizado (PLE) de folhas de yacon utilizando etanol 75% a 90 °C. A figura mostra a evolução da quantidade de fenólicos totais ao longo do tempo, com os dados experimentais representados por círculos pretos e o ajuste da curva utilizando o modelo de *Spline*.

EA: mistura etanol e água (75%, v/v). drmm: matéria-prima seca. GAE: ácido gálico equivalente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A Figura 2 e a Tabela 2 evidenciam que a maior parte dos compostos fenólicos foi recuperada no primeiro estágio de extração (CER), com uma recuperação de 70% em 13 min. Esse resultado está alinhado com as observações de Meireles (2008), que indicam que entre 70 e 90% do material solúvel pode ser obtido durante o estágio CER. Nesse estágio a transferência de massa ocorre por convecção, resultando na recuperação dos solutos de fácil acessibilidade, que estão disponíveis na superfície da matéria-prima ou em células rompidas pelo pré-processamento (Meireles, 2008). Após 60 min, a recuperação alcançou 98,28%, marcando o fim do estágio FER e início da etapa controlada por difusão (DC). Durante o período FER, a recuperação foi de aproximadamente 28%, inferior aos 70% observados no CER. Este estágio é caracterizado por uma diminuição na transferência de massa, devido à redução de área de transferência efetiva. Após a remoção dos compostos superficiais, os remanescentes tornam-se mais difíceis de acessar pelo solvente devido sua localização na matriz de extração. Além disso, as células rompidas não estão mais distribuídas de forma homogênea, o que implica que a extração ocorre por convecção e difusão, com aumento do mecanismo difusional (Meireles, 2008; Pereira *et al.*, 2019). Com uma recuperação de 98% e a observação do período controlado por difusão, foi estabelecido o tempo ideal de extração de 60 min.

A curva ajustada pelo modelo *Spline* de três retas demonstrou uma excelente representatividade dos dados experimentais. A Tabela 2 apresenta os parâmetros do modelo, incluindo os tempos t_{CER} , t_{FER} , bem como suas respectivas recuperações de compostos fenólicos.

Tabela 2. Parâmetros ajustados pelo modelo *Spline* de três retas aplicado à curva PLE de yacon

Parâmetro	Valor
b_0	4,14E-1
b_1	0,9982
b_2	-0,8764
b_3	-0,1155
t_{CER} (min)	13,65
Y_{CER}	14,03
Recuperação CER (%)	70,07
t_{FER} (min)	60,05
Y_{FER}	19,69
Recuperação FER (%)	98,28
R^2	0,989
RMSE	0,660

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

A Tabela 3 apresenta os resultados de caracterização dos extratos, incluindo o rendimento global (% teor de sólidos), teor de compostos fenólicos (mg GAE/g drm), teor de proteínas (mg BSA/g drm), capacidade antioxidante avaliada pelos métodos FRAP (mg TE/g drm) e ORAC (mg TE/g drm), atividade anti-inflamatória (% de inibição) e atividade antimicrobiana (halos de inibição em cm).

Tabela 3. Rendimento, fenólicos totais, proteínas, capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana dos extratos de yacon.

T (°C)	Solvente	X0 (% , m/m)	FT (mg GAE/g drm)	Ácido cafeico (mg CAE/g drm)	Quercetina (mg CAE/g drm)	Proteína (mg BSA/g drm)	FRAP (mg TE/g drm)	ORAC (mg TE/g drm)	Anti-Inflamatória (%)	Antimicrobiana (halo em cm)
60	H ₂ O	24,8±0,5 ^{bC}	26,68±0,63 ^{aD}	1,70±0,01 ^{aD}	0,04±0,03 ^{bB}	17,52±0,52 ^{bD}	74,19±0,93 ^{aD}	104,2±4,92 ^{aC}	-	-
	EtOH 25%	28,5±0,5 ^{aC}	29,6±1,06 ^{aD}	1,80±0,01 ^{aD}	1,17±0,01 ^{aB}	26,72±0,15 ^{aD}	64,88±2,24 ^{bD}	121,71±3,48 ^{aC}	26,32±2,25 ^{ab}	1,2±0,12 ^a
	EtOH 50%	28,8±0,6 ^{aC}	27,82±0,14 ^{aD}	1,64±0,17 ^{aD}	0,48±0,04 ^{abB}	27,74±0,33 ^{aD}	64,43±0,68 ^{bcD}	97,01±4,89 ^{aC}	37,19±1,49 ^{ab}	1,2±0,05 ^{ab}
	EtOH 75%	19,3±0,4 ^{cC}	13,08±0,05 ^{bD}	0,97±0,06 ^{aD}	0,58±0,02 ^{aB}	22,17±0,07 ^{bD}	32,84±1,00 ^{cdD}	71,08±3,83 ^{aC}	-	0,9±0,05 ^c
	EtOH 100%	4,0±0,1 ^{eC}	1,58±0,05 ^{dD}	0,22±0,06 ^{bD}	0,21±0,00 ^{bB}	5,20±0,24 ^{cD}	2,72±0,08 ^{eD}	8,37±0,53 ^{bC}	-	1,3±0,05 ^a
90	H ₂ O	27,3±0,7 ^{bB}	35,01±0,76 ^{aC}	1,20±0,32 ^{aD}	0,26±0,00 ^{bB}	22,23±0,56 ^{bc}	107,64±0,85 ^{aC}	137,48±2,38 ^{aC}	-	-
	EtOH 25%	32,8±1,3 ^{aB}	38,75±0,81 ^{aC}	1,70±0,06 ^{aD}	0,54±0,04 ^{aB}	39,69±0,59 ^{aC}	93,68±3,68 ^{bc}	144,07±3,47 ^{aC}	20,91±2,51 ^b	1,1±0,0 ^{abc}
	EtOH 50%	31,7±0,8 ^{aB}	33,02±0,99 ^{aC}	1,47±0,08 ^{aD}	0,31±0,00 ^{abB}	38,28±1,17 ^{aC}	78,77±4,83 ^{bcC}	128,46±7,54 ^{aC}	41,64±1,98 ^a	-
	EtOH 75%	23,7±0,6 ^{cB}	22,67±0,46 ^{bc}	1,52±0,07 ^{aD}	0,61±0,03 ^{aB}	22,66±0,11 ^{bc}	58,55±1,92 ^{cdC}	104,53±7,90 ^{aC}	-	-
	EtOH 100%	8,4±0,4 ^{eB}	4,21±0,14 ^{dC}	0,24±0,02 ^{bD}	0,02±0,01 ^{bB}	7,97±0,29 ^{cC}	7,96±0,15 ^{eC}	14,58±0,06 ^{bc}	-	1,0±0,05 ^{abc}
120	H ₂ O	33,3±0,5 ^{bA}	45,32±0,35 ^{aB}	1,67±0,03 ^{aBC}	0,41±0,04 ^{bB}	25,88±0,16 ^{bBC}	140,96±1,53 ^{aAB}	211,18±0,06 ^{aB}	-	-
	EtOH 25%	36,5±1,2 ^{aA}	41,53±0,05 ^{aB}	2,52±0,01 ^{aBC}	0,11±0,02 ^{aB}	40,92±0,4 ^{aBC}	108,52±1,73 ^{bAB}	166,87±11,42 ^{AB}	-	1,0±0,09 ^{abc}
	EtOH 50%	38,3±0,5 ^{aA}	41,63±1,67 ^{aB}	1,64±0,03 ^{aBC}	0,15±0,05 ^{abB}	43,26±0,61 ^{aBC}	94,86±1,94 ^{bcAB}	171,50±10,23 ^{AB}	26,23±1,12 ^{ab}	-
	EtOH 75%	27,5±0,3 ^{cA}	40,80±0,74 ^{bB}	3,22±0,31 ^{aBC}	0,62±0,04 ^{aB}	25,65±0,69 ^{bBC}	100,09±3,09 ^{cAB}	212,45±4,22 ^{aB}	-	-
	EtOH 100%	10,0±0,3 ^{eA}	8,46±0,12 ^{dB}	0,75±0,01 ^{Bbc}	0,09±0,00 ^{bB}	6,85±0,43 ^{cBC}	15,58±0,87 ^{eAB}	41,13±1,72 ^{bB}	-	1,0±0,09 ^{bc}
110		33,11±1,8 ^{bA}	43,01±0,04 ^{aBC}	1,31±0,05 ^{aCD}	0,23±0,02 ^{bB}	33,31±0,91 ^{bA}	121,46±4,01 ^{aBC}	215,68±7,95 ^{aB}	-	-
130	H ₂ O	34,0±0,3 ^{bA}	44,34±0,03 ^{aB}	2,90±0,02 ^{aAB}	0,30±0,01 ^{bB}	31,28±0,76 ^{bAB}	142,27±3,26 ^{aAB}	368,27±13,72 ^{aA}	-	-
150		35,6±1,4 ^{bA}	59,75±0,05 ^{aA}	3,14±0,35 ^{aA}	1,01±0,00 ^{bA}	10,81±0,89 ^{bD}	151,62±4,74 ^{aA}	407,78±5,36 ^{aA}	-	-
Soxhlet	H ₂ O	19,95±1,53 ^c	22,33±1,66 ^b	2,14±0,06 ^a	0,02±0,00 ^b	22,01±0,14 ^b	65,52±2,44 ^b	88,47±6,78 ^a	-	-
	EtOH 100%	4,62±0,36 ^e	2,86±0,19 ^{cd}	0,13±0,01 ^b	0,14±0,01 ^b	5,26±0,53 ^c	5,33±0,82 ^e	10,26±0,48 ^b	-	1,3±0,05 ^a

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística para solvente com base no Teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística para temperatura com base no Teste de Tukey a 5% de significância. *Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística com base no Teste de Tukey a 5% de significância. Dados expressos em média±desvio padrão. EtOH 25, 50 e 75%: proporção de etanol/água em volume (v/v). EtOH 100%: etanol puro; H₂O: água pura; drm: matéria-prima seca; GAE: ácido gálico equivalente; CAE: ácido cafeico equivalente; BSA: albumina bovina sérica; TE: Trolox equivalente

3.2.1 Rendimento global

Como mostrado na Tabela 3, o rendimento global (X_0) variou de 4,0 a 38,3%. Dentre as diferentes condições testadas, o uso de etanol 50% a 120 °C proporcionou o maior rendimento, não diferindo significativamente ($p>0,05$) de etanol 25% a 120 °C.

O menor rendimento foi obtido com etanol 100%, sem diferença significativa ($p>0,05$) entre os extratos obtidos por PLE e aqueles produzidos com etanol 100% pelo método convencional (Soxhlet). Observou-se que etanol 75% reduziu significativamente o rendimento, e o etanol 100% apresentou uma redução adicional significativa quando comparado com o etanol 75% e os demais solventes. O aumento de rendimento para extratos de PLE obtidos a partir misturas hidroalcoólicas e água pura, em comparação com etanol 100%, foi também observado para extratos de folhas de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret (Santos *et al.*, 2021).

Além do efeito do solvente, a análise estatística evidenciou que o aumento da temperatura teve efeito positivo sobre o rendimento. Com o aumento de temperatura, a viscosidade e a tensão superficial do solvente são reduzidas, facilitando a difusão na amostra e diminuindo a interação entre os compostos de interesse e a matriz, o que promove uma melhor transferência de massa e, conseqüentemente, aumento de rendimento (Lefebvre; Destandau; Lesellier, 2021). O efeito positivo da temperatura sobre o rendimento também foi observado por outros autores que estudaram a extração de compostos de folhas pela técnica de líquido pressurizado, como em *Syzygium aromaticum* (Frohlich *et al.*, 2023), *Maytenus aquifolia* (Mart.) (Alves *et al.*, 2022), *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret (Santos *et al.*, 2021) e *Mangifera indica* L. (Fernández-Ponce *et al.*, 2015). Utilizando a técnica de Soxhlet com etanol 100%, os resultados obtidos foram semelhantes aos de etanol pressurizado. No entanto, com água pura foi possível obter rendimento superior aos etanólicos, estatisticamente iguais às condições de etanol 75% a 60, 90 e 120 °C. Apesar disso, a tecnologia convencional apresenta a desvantagem do longo tempo requerido para extração. Além disso, a PLE tem a vantagem da pressurização do sistema, que mantém o solvente em fase líquida durante a extração, mesmo em temperaturas superiores ao ponto de ebulição do solvente (Alves *et al.*, 2022). Operar nessas temperaturas contribui para a redução da viscosidade e da tensão superficial, melhorando a difusão na amostra, além de diminuir a interação dos compostos de interesse com a matriz. A combinação desses pontos favorece a transferência de massa (Lefebvre; Destandau; Lesellier, 2021). A faixa de rendimento obtida para os extratos de PLE, de 4,0 a 38,3%, também evidencia a oportunidade de elevar o resultado por meio de um processo mais sustentável, quando comparado a extratos de folhas de yacon descritos na literatura. Russo *et al.* (2015) produziram extratos pelo método de maceração utilizando diferentes solventes, obtendo rendimentos na

faixa de 4,5 a 9,8% para metanol, 3,2 a 6,9% para n-hexano, 2,3 a 3,8% para clorofórmio, e, 0,7 a 3,0% para mistura de clorofórmio e metanol (9:1).

3.2.2 Fenólicos totais

Conforme apresentado na Tabela 3, a maior recuperação de compostos fenólicos foi observada na extração com água subcrítica (SWE) a 150 °C, com um rendimento de 59,75 mg GAE/g drm. Por outro lado, a menor recuperação, 1,58 mg GAE/ g drm foi obtida com etanol 100% a 60 °C. A análise dos resultados mostra que a elevação de temperatura contribuiu positivamente para a recuperação de fenólicos, uma vez que aumentos de 30 °C resultaram em diferença significativa entre os extratos de um mesmo solvente. Para extratos obtidos com etanol 25%, em 60 °C foram recuperados 29,6 mg GAE/g drm, em 90 °C a recuperação foi de 38,75 mg GAE/g drm, e, em 120 °C obteve-se 41,53 mg GAE/g drm. A literatura indica que a elevação da temperatura contribui com o enfraquecimento das ligações químicas de van der Waals, ligações de hidrogênio e atração dipolo, facilitando a liberação de compostos presos à matriz por meio da dessorção (Richter *et al.*, 1996). O efeito positivo temperatura sobre a recuperação de compostos fenólicos também foi observado por outros autores que aplicaram a técnica de PLE em folhas, como *Mangifera indica* L. (Fernández-Ponce *et al.*, 2015), *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk (Ho *et al.*, 2022) e *Stevia rebaudiana* (Raspe; da Silva; da Costa, 2023).

Em relação ao solvente utilizado, foi observado que, em cada faixa de temperatura, os extratos de água, etanol 25% e 50% apresentaram teores de fenólicos estatisticamente semelhantes. Por outro lado, os extratos de etanol 75% e 100% apresentam reduções significativas na recuperação dos compostos. Para extratos obtidos a 120 °C, os rendimentos foram os seguintes: 45,32 mg GAE/g drm, para água, 41,53 mg GAE/g drm para etanol 25% e 41,63 mg GAE/g drm para etanol 50%. Em contrapartida, os extratos de etanol 75% e 100% apresentaram recuperações de 40,80 e 8,46 mg GAE/g drm, respectivamente.

Esse comportamento demonstra uma maior seletividade na recuperação de compostos fenólicos com etanol em comparação com água e misturas hidroalcoólicas. As misturas hidroalcoólicas são capazes de solubilizar um amplo espectro de compostos bioativos, desde compostos com cadeias de um único carbono até polifenóis (Machado *et al.*, 2015). As diferentes proporções de água e etanol nessas misturas alteram a polaridade, o que impacta a recuperação dos compostos, visto que a solubilização e a extração envolvem interações eletrostáticas entre o solvente e o analito (Celaya; Kolb; Kolb, 2016). Além disso, o processo de PLE, que envolve o aumento de temperatura e pressurização do sistema, ocasiona mudanças

físico-químicas na água e no etanol, incluindo a variação de polaridade, o que facilita a extração de simultânea de compostos polares, moderadamente polares e não polares (Raspe; da Silva; da Costa, 2023).

Santos *et al.* (2021) também observaram uma melhor recuperação de fenólicos para água e misturas hidroalcoólicas em comparação com uso de etanol na extração de folhas de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret utilizando PLE. Da mesma forma, Fernández-Ponce *et al.* (2015) observaram melhor recuperação de fenólicos com misturas hidroalcoólicas e água em relação ao etanol na extração de folhas de *Mangifera indica* L. A sinergia entre os solventes nas misturas também contribui para a eficiência da recuperação de compostos, uma vez que um solvente atua na solubilização do analito e o outro facilita a dessorção (Fernández-Ponce *et al.*, 2015). Em misturas de solventes orgânicos com água, a água desempenha um papel importante na liberação de compostos da matriz, devido à sua capacidade de quebrar as ligações de hidrogênio, favorecendo a extração (Mustafa; Turner, 2011). Além disso, a água e as misturas hidroalcoólicas apresentam baixo custo e maior sustentabilidade ambiental, características que as tornam vantajosas para extração de compostos fenólicos (Viganó *et al.*, 2022).

Além das misturas, com o melhor resultado de recuperação, 59,75 mg GAE/g drm, obtido com SWE a 150 °C, surge a possibilidade de elevar a recuperação com uso exclusivo de água como solvente. A recuperação de compostos fenólicos obtida a 120, 130 e 150 °C supera os resultados de estudos com folhas de yacon que empregaram extração supercrítica com CO₂, mistura CO₂ e etanol, mistura CO₂, etanol e água, infusão com água, decocção água e extração com Soxhlet utilizando metanol (Andrade *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2019). Aliakbarian *et al.* (2012) realizaram extração de fenólicos com água subcrítica a 140 °C a partir de bagaço de uva, alcançando um rendimento de 32,49 mg GAE/drm. De modo geral, os resultados obtidos com água em todas as faixas de temperatura corroboram com a possibilidade de utilizá-la como solvente exclusivo, sem comprometer a boa recuperação de compostos fenólicos, tornando o processo ainda mais sustentável quando comparado aos métodos convencionais de extração (Mustafa; Turner, 2011).

Comparada a PLE, a técnica convencional de Soxhlet com etanol resultou em uma concentração de fenólicos de 4,62 mg GAE/g drm, equivalente ao extrato de etanol 100% a 90 °C que apresentou 8,4 mg GAE/g drm (Tabela 3). Com o uso de água como solvente, a extração convencional possibilitou um rendimento de 19,95 mg GAE/g drm, valor significativamente igual ao extrato de PLE etanol 75% a 60 °C, que obteve 19,3 mg GAE/g drm. Contudo, a extração por Soxhlet exigiu um período seis vezes superior a PLE.

3.2.2.1 Identificação e quantificação de compostos fenólicos

A Figura 3 apresenta, como exemplo, o cromatograma do extrato de folhas de yacon obtido com água a 110 °C, a uma taxa de fluxo de 3,0 mL/min e pressão de 10 MPa. Para cada uma das condições de extração foram obtidos cromatogramas como o apresentado na figura, disponíveis para consulta no Anexo 1.

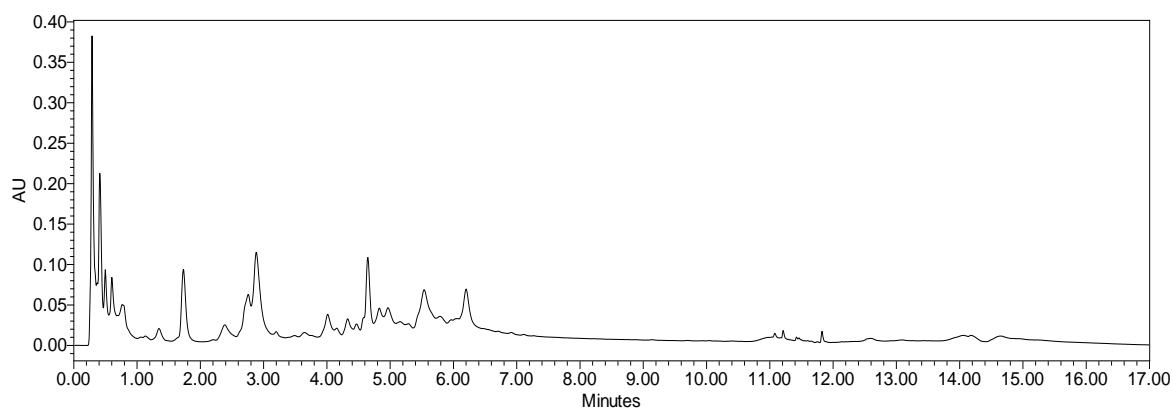


Figura 3. Cromatograma de compostos fenólicos para extrato de folhas de yacon obtido por PLE com água a 110 °C. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

A Tabela 4 detalha os compostos fenólicos identificados nos extratos de yacon obtidos por PLE, incluindo o tempo de retenção, a fórmula molecular e os principais fragmentos.

Dentre os extratos analisados, foram identificados principalmente compostos derivados de ácido cafeico, ácido glucárico, kaempferol, quercetina e ácido caftárico. O ácido cafeico, a quercetina e kaempferol já haviam sido observados por Andrade *et al.* (2014), em seu estudo sobre a identificação e quantificação de compostos fenólicos em extratos de folhas e flores de yacon por HPLC-DAD. Por outro lado, o ácido glucárico, previamente identificado por Silva *et al.* (2018) em xarope de yacon, não havia sido relatado para extratos de folhas.

Entre os nove compostos observados, sete pertencem à classe de ácidos fenólicos e dois à classe de flavonoides.

A quercetina foi detectada em todos os extratos, enquanto o kaempferol foi identificado nos extratos com água, exceto à temperatura de 60 °C. Ambos os compostos são flavonoides já relatados na literatura para folhas de yacon (Simonovska *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2014). Similarmente, o ácido cafeico, um composto fenólico amplamente conhecido em extratos de

folhas de yacon (Simonovska *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2014), esteve presente em todas as condições de PLE estudadas.

O ácido cafeico, um ácido hidroxicinâmico, constitui de 75 a 100% do total de HCAs presentes em frutas, com intensa atividade antioxidante reportada, sendo mais eficaz na inibição da oxidação de lipoproteína de baixa densidade quando comparado ao ácido p-cumárico e ao ácido ferúlico (Meyer *et al.*, 1998; Kikuzaki *et al.*, 2002; Gülçin, 2006; D'Archivio *et al.*, 2007; Mughal *et al.*, 2024). A quercetina, por sua vez, é um flavanoide com propriedades antioxidantes, prevenindo a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade por captura de radicais livres e quelação de íons metálicos. Esse comportamento sugere a possível prevenção de doenças como câncer, aterosclerose e inflamação crônica (Hollman; Katan, 1997; Murota; Terao, 2003; Bentz, 2017).

A presença de ácido cafeico e quercetina (Tabela 3) permite compreender melhor os efeitos do solvente e da temperatura sobre a concentração desses compostos. Para ácido cafeico, a análise de variância evidenciou efeito significativo tanto do solvente quanto da temperatura ($p < 0,05$). As comparações realizadas com teste de Tukey a 5% de significância mostraram que somente o extrato com etanol 100% apresentou diferença significativa, com redução da concentração de ácido cafeico. A temperatura 150 °C obteve os melhores resultados, sendo equivalente a 130 °C. Para quercetina, a análise de variância também revelou um efeito significativo ($p < 0,05$). Entre os solventes, etanol 25% e 75% resultaram na maior recuperação, com resultados estatisticamente equivalentes ao etanol 50%. Assim como para ácido cafeico, o etanol 100% apresentou uma redução significativa na recuperação de quercetina, embora com resultados semelhantes aos da água. Em relação à temperatura, a única diferença estatística foi observada em 150 °C, que proporcionou uma maior recuperação.

Tabela 4. Compostos fenólicos identificados por cromatografia

N°	Composto	RT (min)	[M-H] (m/z)	Fórmula molecular	Fragmentos	Referências
Ácidos Fenólicos						
1	Caffeic acid and derivatives (Caffeoyl glucose)	0.315	341.18	C ₉ H ₈ O ₄	218.0, 258.2, 360.2, 376.2, 324.9, 399.2	(Bastos <i>et al.</i> , 2007)
2	CaffeoylGlucaric and derivatives/ Dicafeoylhexaric acid and derivatives	2.927	191.22/351.15/371.16	C ₁₅ H ₁₆ O ₉ / C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	251.1, 324.9	(Fernández-Poyatos <i>et al.</i> , 2019; Kramberger <i>et al.</i> , 2020)
3	CaffeoylGlucaric acid isomer/ dicafeoylhexaric acid and derivatives	4.778	371.35/533.59	C ₁₅ H ₁₆ O ₉ / C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	248.8, 249.9, 324.9, 326.1, 327.3	(Fernández-Poyatos <i>et al.</i> , 2019; Kramberger <i>et al.</i> , 2020)
4	Caffeic acid	1.746	135.09	C ₉ H ₈ O ₄	216.9, 218.0, 245.2, 246.4, 321.3, 399.2	(Chamorro; Cueva- Mestanza; de Pascual- Teresa, 2021)
5	Caftaric acid and derivatives	11.211	311.20/325.32/335.18/ 339.35	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	323.7, 326.1, 327.3,	(Nuengchamngong; Krittasilp; Ingkaninan, 2011)
6	Dicafeoylhexaric acid and derivatives	4.790	533.25	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	324.5, 333.3, 330.9	(Fernández-Poyatos <i>et al.</i> , 2019)
7	Glucaric acid and derivatives	0.654	111.03/209.14	C ₆ H ₁₀ O ₈	246.4, 248.8, 249.9, 323.7	(Fernández-Poyatos <i>et al.</i> , 2019)
Flavonoides						
8	Quercetin- <i>O</i> -hexoside and derivatives	4.587	463.33	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	212.1, 254.7, 257.1, 303.1, 351.3, 352.5, 353.7	(Fernández-Poyatos <i>et al.</i> , 2019)
9	Kaempferol- <i>O</i> -hydroxylferuloyl and derivatives	1.350	267.15/271.21	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	282.0, 283.2, 322.5, 324.9	(Gouveia-Figueira; Castilho, 2015)

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

3.2.3 Teor de proteínas

O teor de proteínas dos extratos de yacon está apresentado na Tabela 3, com faixa de 5,20 a 43,26 mg BSA/g drm. Tanto o solvente quanto a temperatura exerceram efeitos significativos ($p < 0,05$) sobre o teor de proteínas dos extratos. Os extratos de etanol 25% e 50% mostraram um efeito positivo, com concentrações estatisticamente semelhantes, enquanto extratos de etanol 100% apresentaram uma redução significativa no teor proteico, quando comparados às misturas hidroalcoólicas e à água. As maiores concentrações de proteínas foram obtidas nos extratos de etanol 25% etanol 50% a 120 °C.

Rudke *et al.* (2024) compararam a PLE com as técnicas de ultrassom assistida (UAE), micro-ondas (MAE) e agitação térmica (HSE) na obtenção de frações proteicas. A PLE apresentou o melhor desempenho, com uma recuperação de 50,3% das proteínas, superando a recuperação de 42,36% obtida com HSE. Esse resultado destaca a PLE como uma técnica superior à HSE, que, apesar de sua simplicidade, baixo custo e eficiência, tem limitações na interação proteína-solvente devido à desprotonação dos grupos amina e carboxila ionizantes (Phongthai; Lim; Rawdkuen, 2016; Guzmán-Lorite; Marina; García, 2022). A eficiência da PLE pode ser atribuída ao aumento da transferência de massa proporcionado pela alta pressão e temperatura (Galván *et al.*, 2022).

Os métodos tradicionais para a recuperação de proteínas em biomassa frequentemente utilizam solventes orgânicos, o que representa uma desvantagem ambiental (Ziero *et al.*, 2020). O uso de água subcrítica para extração de frações proteicas, aminoácidos e peptídeos bioativos foi demonstrada por outros autores (Sereewatthanawut *et al.*, 2008; Ndlela *et al.*, 2012; Wang; Chen; Lü, 2014; Ahmed; Chun, 2018). Contudo, como apontado por Ziero *et al.* (2020), o avanço desta técnica para recuperação de proteínas e aminoácidos a partir de biomassa tem sido mais lento em escala laboratorial, e sua aplicação em grande escala e escala industrial ainda é limitada.

De modo geral, os extratos hidroalcoólicos obtidos por PLE mostraram resultados promissores para a extração de proteínas. Para otimizar esses resultados em futuros estudos, sugere-se explorar a combinação da técnica com solventes mais eficazes para recuperação de proteínas ou o delineamento de processos em múltiplos estágios. Além disso, é importante investigar as propriedades funcionais das proteínas extraídas.

3.2.4 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi avaliada por duas metodologias, FRAP e ORAC. O ensaio de FRAP mede a capacidade redutora dos compostos antioxidantes presentes nas

amostras, sendo amplamente utilizado para a avaliação de diversos alimentos, bebidas e extratos vegetais (Huang; Ding; Fan, 2012; Du; Xu, 2014). Já o método ORAC utiliza radicais peróxido como modelos para reações entre antioxidantes, lipídios oxidados e espécies reativas de oxigênio (ROS), sendo utilizado tanto em alimentos quanto em estudos *in vivo* (Schaich; Tian; Xie, 2015). A aplicação de ambas as abordagens permite uma visão mais abrangente dos compostos antioxidantes presentes em extratos naturais (Viganó *et al.*, 2022).

Nos resultados de capacidade antioxidante, para o método FRAP, observou-se que os extratos de água pura a 60 e 90 °C apresentaram resultados significativamente superiores ($p < 0,05$) aos extratos alcoólicos. Além disso, um comportamento semelhante ao observado na extração de compostos fenólicos foi notado, onde os extratos de etanol 75% mostraram uma diminuição significativa na recuperação antioxidante em comparação com os extratos de água, etanol 25% e 50%. Também se observou uma redução significativa na capacidade antioxidante para os extratos de etanol 100% em comparação com os de etanol 75%. Ademais, para um mesmo solvente, o aumento de temperatura resultou em acréscimo significativo de capacidade antioxidante. Os extratos de água subcrítica mostraram que o extrato obtido a 150 °C teve a maior capacidade antioxidante, como evidenciado pelo método FRAP, superando tanto os extratos aquosos quanto os alcoólicos. Por outro lado, os extratos obtidos a 110, 120 e 130 °C apresentaram resultados estatisticamente iguais entre si.

Russo *et al.* (2015) produziu extratos de folhas de yacon por maceração com solventes como n-hexano, clorofórmio, metanol e mistura de clorofórmio e metanol, obtendo resultados de FRAP variando entre 31,55 e 66,80 mg TE/g de extrato seco. Para os extratos obtidos com PLE, os valores de FRAP variaram de 2,72 a 151,62 mg de TE/g *drm*, o que demonstra a possibilidade de produzir extratos com alta capacidade de redução férrica por meio de um processo mais rápido e sustentável.

Para o método ORAC, observou-se que, dentro das três faixas de temperatura, a ação do solvente foi significativamente igual para água pura, etanol 25, 50 e 75%, sendo inferior apenas para etanol 100%. Além disso, o aumento de temperatura de 60 para 90 °C não resultou em diferenças significativas nos resultados. No entanto, a partir de 120 °C, houve um ganho significativo de capacidade antioxidante. Para os extratos de água subcrítica, os extratos obtidos a 130 e 150 °C não apresentaram diferença significativa entre si, mas ambos mostraram valores superiores aos demais extratos, aquosos e alcoólicos. Já os extratos a 110 e 120 °C não diferiram estatisticamente entre si nem dos extratos hidroalcoólicos obtidos a 120 °C. Outros autores também observaram a maior capacidade antioxidante para extratos de água subcrítica (Cheung; Cheung; Ooi, 2003; Othman *et al.*, 2007; Guthrie *et al.*, 2020).

Os extratos produzidos pela tecnologia convencional de Soxhlet com etanol 100% apresentaram resultados equivalentes aos obtidos por PLE a 90 °C para FRAP, e, a 60 e 90 °C para ORAC. Isso demonstra que a pressurização e o aumento de temperatura tornam o processo mais eficiente, dado a considerável diferença de tempo entre as técnicas. Como também observado por Viganó *et al.* (2016b), os extratos de casca de maracujá produzidos com PLE utilizando etanol 100% foram inferiores ou estatisticamente iguais aos obtidos por Soxhlet.

No caso da metodologia convencional com água, os resultados para FRAP foram similares aos extratos de etanol 25 e 50% a 60 °C, e para ORAC, foram semelhantes aos extratos aquosos e hidroalcoólicos a 60 e 90 °C. Embora a técnica de Soxhlet seja amplamente utilizada desde 1879 (Soxhlet, 1879), e, frequentemente utilizada como referência para comparar novas tecnologias de extração emergentes, ela apresenta desvantagens, como o longo tempo de processo, a necessidade de solventes de alta pureza e a baixa seletividade na extração (De Castro; Garcia-Ayuso, 1998). Por outro lado, a pureza dos extratos obtidos por PLE é uma das abordadas na literatura vantagens, evitando etapas adicionais de purificação, conforme relatado na literatura (Azmir *et al.*, 2013; Sosa-Ferrera; Mahugo-Santana; Santana-Rodríguez, 2013; Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2021).

De maneira geral, observa-se que a concentração de compostos fenólicos está fortemente relacionada à atividade antioxidante determinada tanto por FRAP quanto por ORAC. O aumento da temperatura favoreceu valores mais elevados de capacidade antioxidante, enquanto o aumento da fração alcoólica resultou em uma diminuição dessa capacidade. A correlação entre o teor de fenólicos e a capacidade antioxidante foi confirmada pelo cálculo do coeficiente de correlação de Pearson (valor-*r*), conforme apresentado na Tabela 5. Para ambas as metodologias de capacidade antioxidante, obteve-se um valor-*r* próximo a 1, indicando uma forte relação linear entre o teor de fenólicos e a atividade antioxidante. Além disso, a correlação foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), sugerindo que a capacidade antioxidante dos extratos está diretamente relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos.

Correlações semelhantes foram observadas por outros autores. Pereira *et al.* (2019) relataram um valor-*r* de 0,958 para correlação entre o teor de fenólicos e FRAP, e de 0,940 para a correlação entre o teor de fenólicos e ORAC, em extratos de bagaço de uva obtidos por PLE utilizando etanol e água. Em um estudo conduzido por Viganó *et al.* (2016a) utilizando etanol e água para extração de bagaço de maracujá via PLE, o valor-*r* para correlação entre o teor de fenólicos e FRAP foi de 0,990, enquanto a correlação entre o teor de fenólicos e ORAC resultou em um valor-*r* de 0,886. Esses resultados reforçam a eficiência da PLE na obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos com atividade antioxidante.

Tabela 5. Matriz da correlação de Pearson entre resultados de capacidade antioxidante (FRAP e ORAC) e teor de fenólicos (FT)

		FRAP	ORAC
FT	<i>r</i>	0,966	0,896
	<i>p</i>	5,625E-09	1,186E-09

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A presença de compostos fenólicos, como a quercetina e ácido cafeico, com ação antioxidante amplamente relatada na literatura (Meyer *et al.*, 1998; Kikuzaki *et al.*, 2002; Bentz, 2017), reforça o potencial antioxidante dos extratos obtidos a partir de folhas de yacon.

3.3 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *in vitro*

A atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo efeito inibitório dos extratos sobre a desnaturação de albumina de ovo. Cinco condições de extração demonstraram atividade anti-inflamatória (Tabela 3), sendo etanol 25% e 50% a 60 °C e 90 °C, e, etanol 50% a 120 °C, sem diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao anti-inflamatório de referência, diclofenaco de sódio 100 µg/mL, que apresentou 35,64% de inibição da desnaturação da proteína.

A condição de etanol 50% a 90 °C resultou em 41,64% de inibição, com diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à menor inibição observada (20,91%) para o extrato de etanol 25% a 90 °C. Esse dado geralmente seja expresso como IC50 (concentração de extrato necessária para inibir 50% da desnaturação proteica em comparação ao controle) (Divya *et al.*, 2023), nas concentrações testadas, a inibição máxima foi de 41,64%. O extrato com essa inibição apresentou uma concentração de sólidos de 7,25 µg/mL, indicando que apesar de uma baixa concentração de compostos, o extrato tem um grande potencial anti-inflamatório. Futuros estudos poderiam focar na produção de extratos mais concentrados e analisar seu impacto disso sobre a inibição inflamatória.

Os resultados do perfil cromatográfico de fenólicos corroboram o potencial anti-inflamatório dos extratos, destacando a presença de compostos com efeitos relatados na literatura, como a quercetina, ácido cafeico e kaempferol (Devi *et al.*, 2015; Choi *et al.*, 2018; Lesjak *et al.*, 2018). No entanto, alguns extratos, mesmo contendo esses compostos, não apresentaram atividade anti-inflamatória evidente. A baixa presença de fenólicos totais não parece ser a única justificativa, já que extratos com altos teores de fenólicos, como os de água subcrítica, também não demonstraram efeito.

É possível que interferentes extraídos da matriz tenham influenciado o processo inflamatório da proteína utilizada. O efeito do etanol na desnaturação proteica também foi observado, e a coloração dos extratos pode ter impactado as leituras durante a análise. Embora os resultados dessa análise e o perfil cromatográfico indiquem o potencial anti-inflamatório dos extratos, estudos mais robustos, como análises *in vivo* e o uso de extratos mais concentrados, seriam necessários para evidenciar de forma mais clara esse efeito.

3.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A atividade antibacteriana dos extratos de folhas de yacon obtidos por PLE foi avaliada sobre *L. lactis* ATCC 19435 usando a técnica de difusão em ágar como uma triagem inicial. Após o período de incubação, observou-se que nenhum dos extratos apresentou inibição, que seria evidenciada pela formação de halos ao redor dos poços.

A presença de substâncias com ação antibacteriana em folhas de yacon já foi demonstrada por Lin; Hasegawa e Kodama (2003), que isolaram lactonas sesquiterpênicas com efeito inibitório contra *Bacillus subtilis*. No entanto, o método de extração e solvente utilizados no referido estudo foram diferentes, com a extração sendo realizada com metanol 70% em agitador orbital por, aproximadamente, 18 h, seguida por concentração, evaporação, nova extração com acetato de etila e evaporação.

Dessa forma, não foi descartada a hipótese de que os extratos produzidos por PLE continham compostos com ação antibacteriana, visto que diversos estudos associaram a atividade antibacteriana de extratos naturais contra microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Bacillus cereus* à presença de compostos fenólicos (Gedük; Atsız, 2022; Senhaji *et al.*, 2022; Elagdi *et al.*, 2023; Harun-Or-Rashid *et al.*, 2023; Royani *et al.*, 2023).

A partir das informações reportadas na literatura surgiu a suposição de que, para uma aplicação de apenas 50 µL, os compostos presentes estariam em concentrações abaixo da mínima inibitória. A concentração de compostos fenólicos nos extratos de yacon variou de 0,03 a 1,41 mg GAE/mL. Considerando o volume utilizado nos poços de 50 µL, a concentração final de compostos fenólicos variou de 0,0015 a 0,07035 mg. Pacheco-Ordaz *et al.* (2018) observaram que compostos da classe ácidos fenólicos, nas concentrações de 15 e 30 mmol/L, foram eficazes em inibir o crescimento de *E. coli* e *Salmonella Typhimurium*. Para comparar com os extratos de folhas de yacon, a concentração de fenólicos variou de 0,1764 a 8,27 mmol GAE/L, sendo que mesmo o extrato com maior concentração de fenólicos não atingiu a concentração mínimo para a ação inibitória demonstrada por Pacheco-Ordaz *et al.* (2018).

Esses dados são importantes para a interpretação dos resultados, fornecendo uma orientação sobre a concentração necessária de compostos fenólicos para atividade antimicrobiana. Contudo, é relevante destacar que Pacheco-Ordaz *et al.* (2018) testaram compostos fenólicos de forma isolada, em microrganismos diferentes dos utilizados no presente estudo, com extratos de yacon. Além disso, fatores como o efeito sinérgico entre compostos de um mesmo extrato e a variação das concentrações mínimas inibitórias para os diferentes compostos fenólicos devem ser considerados (Gutiérrez-Larraínzar *et al.*, 2012).

Com o intuito de buscar uma concentração na qual os extratos apresentassem alguma ação inibitória, os extratos foram concentrados por evaporação. Para preservar as proporções de proteínas e compostos fenólicos, os extratos foram concentrados a partir do teor de sólidos totais, sendo que todos foram padronizados para 0,1 g de sólidos/mL. Essa concentração foi escolhida para minimizar a suspensão no extrato concentrado, além de ser a máxima possível para os volumes de extratos produzidos.

Os testes de atividade antibacteriana foram repetidos para todos os extratos concentrados, utilizando a mesma metodologia de difusão em ágar. Dentre todos os extratos avaliados, foram observados halos de inibição por nove extratos: etanol 25% a 60, 90 e 120 °C; etanol 50% a 60 °C; etanol 75% a 60 °C, etanol 100% a 60, 90 e 120 °C; e o extrato obtido em Soxhlet com etanol 100%. Os resultados que podem ser verificados na Tabela 3.

De maneira geral, observou-se que os extratos produzidos com água não apresentaram ação inibitória contra *L. lactis*.

Para compreender melhor o efeito desses extratos e o impacto do solvente de extração, foi realizada a análise de CMI para os nove extratos que apresentaram atividade antibacteriana após o processo de concentração dos extratos por evaporação. Os resultados obtidos para as CMI dos extratos testados estão apresentados na Tabela 6.

Os extratos que apresentaram os menores valores de CMI (3,13 mg/mL) foram aqueles extraídos com etanol 25% a 90 °C, 75% e 100% a 60 °C, 100% a 90 °C, além do extrato obtido por Soxhlet com etanol 100%. Esses extratos demonstraram maior eficácia na inibição do crescimento de *L. lactis* em concentrações mais baixas, indicando maior potência antibacteriana.

Para os demais extratos com atividade antibacteriana, a CMI variou de 6,25 a 12,5 mg/mL, o que ainda confirma o potencial inibitório dos extratos, embora em concentrações mais elevadas.

Tabela 6. Concentração mínima inibitória para os nove extratos de folhas de yacon

Extrato	CMI (mg/mL)
EtOH 25%, 60 °C	12,5
EtOH 25%, 90 °C	12,5
EtOH 25%, 120 °C	3,13
EtOH 50%, 60°C	6,25
EtOH 75%, 60 °C	3,13
EtOH 100%, 60 °C	3,13
EtOH 100%, 90 °C	3,13
EtOH 100%, 120 °C	6,25
EtOH 100%, Soxhlet	3,13

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

É importante destacar, com base nos controles realizados, que o etanol presente nos extratos não interferiu na inibição da bactéria, uma vez que, nas CMI determinadas, o teor do solvente estava suficientemente diluído não sendo capaz provocar inibição microbiana. Esses resultados reforçam a hipótese de que os compostos fenólicos presentes nos extratos de folhas de yacon são os principais responsáveis pela atividade antibacteriana observada.

Quercetina e ácido cafeico são compostos fenólicos com atividade antimicrobiana já relatada na literatura (Khan *et al.*, 2021; Nguyen; Bhattacharya, 2022), e foram identificados em todas as condições de extração testadas. No entanto, nem todos os extratos apresentaram ação inibitória. Além disso, uma análise detalhada do perfil cromatográfico de fenólicos demonstra que não há compostos exclusivos para essas condições. Ou seja, não é possível associar a ação antibacteriana a um único composto ou a um grupo restrito de compostos identificados exclusivamente nesses nove extratos. Dessa forma, pode-se concluir que a atividade antibacteriana é provavelmente o resultado do efeito sinérgico entre os compostos extraídos nas diferentes condições de extração.

Esses resultados sugerem que a atividade inibitória está fortemente relacionada aos compostos extraídos das folhas de yacon, especialmente quando se utilizam concentrações mais baixas de etanol, em que a fração do solvente é suficientemente reduzida para permitir uma avaliação mais precisa do efeito dos compostos bioativos.

3.5 ATIVIDADE ANTI-*QUORUM SENSING*

A determinação da atividade anti-*quorum sensing* em *C. violaceum* foi conduzida pelo teste de difusão em ágar da mesma forma que o ensaio realizado para atividade antibacteriana, com a diferença de que, no caso da atividade anti-*quorum sensing*, os resultados foram analisados pela inibição da produção do pigmento violaceína (coloração roxa), cuja regulação ocorre por *quorum sensing*, produzido pelas colônias próximo ao poço contendo o extrato (Sikdar et al., 2024).

Após o período de incubação, observou-se o aparecimento da coloração roxa característica da cepa testada, bem como o surgimento de halos com pigmentação reduzida ou inibida, indicativos da atividade anti-*quorum sensing*. Todos os extratos obtidos por PLE demonstraram atividade anti-*quorum sensing*, incluindo aqueles extraídos com água pura. Os diâmetros das zonas de inibição produzidas estão apresentados na Tabela 7.

Os resultados mostram que a concentração foi um fator significativamente relevante ($p < 0,05$) para a inibição, com diferenças estatísticas observadas nos três níveis testados. Além disso, os extratos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre si nas zonas de inibição que produziram. Nenhum dos tratamentos, ou seja, a combinação de extrato e concentração, apresentou efeito igual ao da furanona, que foi utilizada como inibidor de referência. Contudo, é interessante observar que os extratos de água pura na concentração 0,1 g/mL obtidas por PLE nas diferentes temperaturas, foram responsáveis pelas maiores zonas de inibição, não apresentando diferenças significativas entre si ($p < 0,05$). Essas zonas de inibição foram estatisticamente iguais às produzidas pelo extrato hidroalcoólico de etanol 50% a 120 °C.

A redução de coloração, evidenciada pelos halos, indica que os extratos contêm compostos capazes de inibir a produção de violaceína (Alvarez; Moreira; Ponce, 2012). O potencial anti-*quorum sensing* demonstrado pelos extratos de yacon, até então não observado em outros estudos, abre novas oportunidades para a aplicação desses extratos, como em formulações que consistam em misturas de extratos naturais. Interferir no processo de comunicação bacteriana via *quorum sensing* pode ser uma estratégia alternativa para impedir o crescimento bacterianos (Sikdar et al., 2024).

Como evidenciado ao longo desse estudo, os extratos de yacon obtidos por PLE apresentaram boa concentração de compostos fenólicos, aos quais estão associados às propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas. A literatura também aponta que compostos fenólicos desempenham um papel importante na ação anti-*quorum sensing*, com mecanismos de ação ainda sendo esclarecidos (Lima; Winans; Pinto, 2023). Entretanto, essa não é uma tarefa simples, pois um mesmo composto pode apresentar diferentes formas de ação,

dependendo do microrganismo, do sistema de *quorum sensing* e do método de análise utilizado (Lima; Winans; Pinto, 2023).

Tabela 7. Diâmetro de zonas de inibição

Extrato		Diâmetro da zona de inibição (cm)		
Temperatura	Solvente	0,1 g/mL	0,05 g/mL	0,025 g/mL
60 °C	H ₂ O	1,5±0,1 ^{aB}	1,15±0,05 ^{bB}	0,95±0,05 ^{cB}
	EtOH 25%	1,05±0,05 ^{aBC}	0,95±0,05 ^{bBC}	0,0±0,0 ^{cBC}
	EtOH 50%	1,35±0,05 ^{aBC}	1,1±0,0 ^{bBC}	0,0±0,0 ^{cBC}
	EtOH 75%	0,45±0,05 ^{aC}	0,25±0,05 ^{bC}	0,0±0,0 ^{cC}
	EtOH 100%	0,4±0,1 ^{aC}	0,0±0,0 ^{bC}	0,0±0,0 ^{cC}
90 °C	H ₂ O	1,35±0,05 ^{aB}	1,0±0,0 ^{bB}	0,9±0,1 ^{cB}
	EtOH 25%	1,15±0,05 ^{aBC}	0,95±0,05 ^{bBC}	0,0±0,0 ^{cBC}
	EtOH 50%	1,25±0,05 ^{aBC}	1,05±0,05 ^{bBC}	0,0±0,0 ^{cBC}
	EtOH 75%	0,35±0,05 ^{aC}	0,15±0,05 ^{bC}	0,0±0,0 ^{cC}
	EtOH 100%	0,4±0,0 ^{aC}	0,25±0,05 ^{bC}	0,0±0,0 ^{cC}
120 °C	H ₂ O	1,25±0,05 ^{aB}	0,9±0,0 ^{bB}	0,85±0,05 ^{cB}
	EtOH 25%	1,1±0,1 ^{aBC}	0,7±0,1 ^{bBC}	0,0±0,0 ^{cBC}
	EtOH 50%	1,1±0,0 ^{aB}	0,95±0,05 ^{bB}	0,95±0,05 ^{cB}
	EtOH 75%	0,55±0,05 ^{aC}	0,25±0,05 ^{bC}	0,0±0,0 ^{cC}
	EtOH 100%	0,6±0,0 ^{aC}	0,2±0,0 ^{bC}	0,0±0,0 ^{cC}
110 °C	H ₂ O	1,2±0,0 ^{aB}	1,05±0,05 ^{bB}	0,85±0,05 ^{cB}
130 °C		1,4±0,0 ^{aB}	0,85±0,05 ^{bB}	0,8±0,1 ^{cB}
150 °C		1,55±0,05 ^{aB}	1,15±0,05 ^{bB}	0,95±0,05 ^{cB}

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) para concentração pelo teste de Tukey a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os extratos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Vale destacar que o perfil cromatográfico de fenólicos identificou a presença de quercetina em todos os extratos. Este composto é um dos nove flavonoides que demonstraram

efeito inibitório sobre o sistema de *quorum sensing* conforme evidenciado por Paczkowski *et al.* (2017).

4. CONCLUSÃO

A técnica de PLE mostrou-se eficaz na obtenção de extratos de folhas de yacon ricos em compostos fenólicos e com significativa atividade antioxidante e anti-inflamatória, de forma sustentável e eficiente. Em termos de rendimento global, os extratos alcoólicos com 25 e 50% de etanol a 120 °C apresentaram os melhores resultados. Para a recuperação de compostos fenólicos, os extratos com água subcrítica demonstraram as maiores concentrações, sendo também os mais eficazes em termos de atividade antioxidante. Para a extração de proteínas, a condição mais favorável foi a utilização de etanol a 50% sob 120 °C.

Em relação à atividade antibacteriana, observou-se uma dificuldade em evidenciar tal ação pelos extratos produzidos, indicando a necessidade de uma etapa adicional de concentração. Futuros estudos podem incluir etapas de purificação, a fim de determinar qual condição experimental da PLE promove a maior recuperação de compostos com ação antimicrobiana, possibilitando o desenvolvimento de estratégias para maximizar o teor desses compostos.

Os resultados obtidos evidenciam as diversas aplicações dos extratos de yacon, especialmente para fins de ação antioxidante. A partir destes dados, é possível delinear novos trabalhos visando otimizar o rendimento global, obter altos teores de compostos fenólicos, aumentar a capacidade antioxidante ou promover um maior teor de proteínas.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, M. H.; ACREE JR, W. E. On the solubility of quercetin. **Journal of Molecular Liquids**, 197, p. 157-159, 2014.
- AHMED, R.; CHUN, B.-S. Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. **The Journal of Supercritical Fluids**, 141, p. 88-96, 2018.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current Research in Food Science**, 4, p. 200-214, 2021.
- ALIAKBARIAN, B.; FATHI, A.; PEREGO, P.; DEGHANI, F. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. **The Journal of Supercritical Fluids**, 65, p. 18-24, 2012.
- ALVAREZ, M. V.; MOREIRA, M. R.; PONCE, A. Antiquorum sensing and antimicrobial activity of natural agents with potential use in food. **Journal of Food Safety**, 32, n. 3, p. 379-387, 2012.

ALVES, T. P.; TRIQUES, C. C.; PALSIKOWSKI, P. A.; DA SILVA, C. *et al.* Improved extraction of bioactive compounds from *Monteverdia aquifolia* leaves by pressurized-liquid and ultrasound-assisted extraction: Yield and chemical composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, 181, p. 105468, 2022.

ANDRADE, E. F. D.; DE SOUZA LEONE, R.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Industrial Crops and Products**, 62, p. 499-506, 2014.

ANIYA, Y.; KOYAMA, T.; MIYAGI, C.; MIYAHIRA, M. *et al.* Free radical scavenging and hepatoprotective actions of the medicinal herb, *Crassocephalum crepidioides* from the Okinawa Islands. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 28, n. 1, p. 19-23, 2005.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. AOAC International, 1997.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. AOAC International, 2000.

ARSHAD, R. N.; ABDUL-MALEK, Z.; MUNIR, A.; BUNTAT, Z. *et al.* Electrical systems for pulsed electric field applications in the food industry: An engineering perspective. **Trends in Food Science & Technology**, 104, p. 1-13, 2020.

AYBAR, M. J.; RIERA, A. N. S.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 74, n. 2, p. 125-132, 2001.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. *et al.* Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, 117, n. 4, p. 426-436, 2013.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BARRALES, F. M.; SILVEIRA, P.; BARBOSA, P. D. P. M.; RUVIARO, A. R. *et al.* Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids—An application to orange peel. **Food and Bioproducts Processing**, 112, p. 9-21, 2018.

BASTOS, D. H. M.; SALDANHA, L. A.; CATHARINO, R. R.; SAWAYA, A. C. *et al.* Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, 12, n. 3, p. 423-432, 2007.

BELAY, A.; GHOLAP, A. Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, 3, n. 11, p. 234-240, 2009.

BENTZ, A. B. A Review of quercetin: chemistry, antioxidant properties, and bioavailability. **Journal of Young Investigators**, 2017.

BENZIE, I. F. An automated, specific, spectrophotometric method for measuring ascorbic acid in plasma (EFTSA). **Clinical Biochemistry**, 29, n. 2, p. 111-116, 1996.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BERNHOF, A. A brief review on bioactive compounds in plants. *In: Bioactive compounds in plants-benefits and risks for man and animals*, 2010. v. 50, p. 11-17.

BONINA, F.; PUGLIA, C.; VENTURA, D.; AQUINO, R. *et al.* *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. **Journal of Cosmetic Science**, 53, n. 6, p. 321-336, 2002.

BOSQUE, H.; TRIGO, R.; MERCADO, G.; ROJAS, V. *et al.* Revalorización sostenible de la agrobiodiversidad a través de la gastronomía: la visión del proyecto LATINCROP. **Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales**, p. 214, 2016.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BURGOS-MORON, E.; PEREZ-GUERRERO, C.; LOPEZ-LAZARO, M.; CALDERON-MONTANO, J. A review on the dietary flavonoid kaempferol. **Mini Reviews Medicinal Chemistry**, 11, n. 4, p. 298-344, 2011.

CAETANO, B. F.; DE MOURA, N. A.; ALMEIDA, A. P.; DIAS, M. C. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a food supplement: Health-promoting benefits of fructooligosaccharides. **Nutrients**, 8, n. 7, p. 436, 2016.

CAMEL, V. Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. **Analyst**, 126, n. 7, p. 1182-1193, 2001.

CAO, G.; ALESSIO, H. M.; CUTLER, R. G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, 14, n. 3, p. 303-311, 1993.

CARVALHO, L. M. S.; OLIVEIRA, A. M. B.; GRIMALDI, R.; DE SOUZA, P. T. *et al.* Supercritical fluid and pressurized liquid extraction of spent tucumã-do-Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) almonds. **The Journal of Supercritical Fluids**, 209, p. 106238, 2024.

CELAYA, L. S.; KOLB, E.; KOLB, N. Solubility of Stevioside and Rebaudioside A in water, ethanol and their binary mixtures. **International Journal of Food Studies**, 5, n. 2, 2016.

CHEUNG, L.; CHEUNG, P. C.; OOI, V. E. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, 81, n. 2, p. 249-255, 2003.

CHOI, H. G.; TRAN, P. T.; LEE, J.-H.; MIN, B. S. *et al.* Anti-inflammatory activity of caffeic acid derivatives isolated from the roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. **Archives of Pharmacal Research**, 41, p. 64-70, 2018.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 79, n. 3, p. 362-372, 1999.

COLL ARÁOZ, M. V.; KORTSARZ GONZÁLEZ, A. M.; MERCADO, M. I.; PONESSA, G. I. *et al.* Ontogeny and total sugar content of yacon tuberous roots and other three *Smallanthus* species (Heliantheae, Asteraceae), insights on the development of a semi-domesticated crop. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 61, p. 163-172, 2014.

CRAVOTTO, G.; BOFFA, L.; MANTEGNA, S.; PEREGO, P. *et al.* Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. **Ultrasonics sonochemistry**, 15, n. 5, p. 898-902, 2008.

CRUZ, P. N.; FETZER, D. L.; DO AMARAL, W.; DE ANDRADE, E. F. *et al.* Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂+ ethanol solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, 146, p. 55-64, 2019.

CUI, Y.; MORGENSTERN, H.; GREENLAND, S.; TASHKIN, D. P. *et al.* Dietary flavonoid intake and lung cancer—A population-based case-control study. **Cancer**, 112, n. 10, p. 2241-2248, 2008.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULO, R. *et al.* Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali-Istituto Superiore di Sanita**, 43, n. 4, p. 348, 2007.

DA SILVA, R. F.; CARNEIRO, C. N.; DE SOUSA, C. B. D. C.; GOMEZ, F. J. *et al.* Sustainable extraction bioactive compounds procedures in medicinal plants based on the principles of green analytical chemistry: A review. **Microchemical Journal**, 175, p. 107184, 2022.

DE CASTRO, M. L.; GARCÍA-AYUSO, L. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, 369, n. 1-2, p. 1-10, 1998.

DE MELO, G. O.; MALVAR, D. D. C.; VANDERLINDE, F. A.; ROCHA, F. F. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. **Journal of Ethnopharmacology**, 124, n. 2, p. 228-232, 2009.

DEL CERRO, L. M.; REJAVINSKY, K. U.; PADILLA, I. B. Efecto normoglicemiante del tubérculo y la hoja del yacón (*Smallantus sonchifolius*) en paciente diabéticos Tipo 2. **Horizonte médico**, 4, n. 1, p. 54-65, 2004.

DELLA LOGGIA, R.; RAGAZZI, E.; TUBARO, A.; FASSINA, G. *et al.* Anti-inflammatory activity of benzopyrones that are inhibitors of cyclo-and lipo-oxygenase. **Pharmacological Research Communications**, 20, p. 91-94, 1988.

DENG, S.-P.; YANG, Y.-L.; CHENG, X.-X.; LI, W.-R. *et al.* Synthesis, spectroscopic study and radical scavenging activity of kaempferol derivatives: Enhanced water solubility and antioxidant activity. **International Journal of Molecular Sciences**, 20, n. 4, p. 975, 2019.

DEVI, K. P.; MALAR, D. S.; NABAVI, S. F.; SUREDA, A. *et al.* Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. **Pharmacological research**, 99, p. 1-10, 2015.

DEVILLERS, J.; STEIMAN, R.; SEIGLE-MURANDI, F. The usefulness of the agar-well diffusion method for assessing chemical toxicity to bacteria and fungi. **Chemosphere**, 19, n. 10-11, p. 1693-1700, 1989.

DIVYA, M.; SHANTI, G.; AMALRAJ, S.; AMIRI-ARDEKANI, E. *et al.* Evaluation of in vitro enzyme inhibitory, anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial activities of *Oldenlandia corymbosa* L. and *Oldenlandia umbellata* L. whole plant extracts. **Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine**, 8, p. 100286, 2023.

DOUGLAS, J.; DOUGLAS, M.; DEO, B.; FOLLETT, J. *et al.* Research and development of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) production in New Zealand. 2005.

DU, B.; XU, B. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) of β -glucans from different sources with various molecular weight. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, 3, n. 1, p. 11-16, 2014.

DUARTE, M. D. R.; WOLF, S.; PAULA, B. G. D. *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.(yacón): identificação microscópica de folha e caule para o controle de qualidade farmacognóstico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 44, p. 157-164, 2008.

ELAGDI, C.; BOUAOUDA, K.; RAHHAL, R.; HSAINE, M. *et al.* Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of *Euphorbia resinifera* and *Euphorbia echinus*. **Scientific African**, 21, p. e01779, 2023.

ESPÍN, S.; VILLACRÉS, E.; BRITO GRANDES, B. Caracterización físico-química, nutricional y funcional de raíces y tubérculos andinos. 2004.

FERNÁNDEZ-PONCE, M. T.; CASAS, L.; MANTELL, C.; DE LA OSSA, E. M. Use of high pressure techniques to produce *Mangifera indica* L. leaf extracts enriched in potent antioxidant phenolic compounds. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 29, p. 94-106, 2015.

FERNÁNDEZ-POYATOS, M. D. P.; RUIZ-MEDINA, A.; ZENGIN, G.; LLORENT-MARTÍNEZ, E. J. Phenolic characterization, antioxidant activity, and enzyme inhibitory properties of *Berberis thunbergii* DC. leaves: A valuable source of phenolic acids. **Molecules**, 24, n. 22, p. 4171, 2019.

FILIPOVIĆ, M.; MARKOVIĆ, Z.; ĐOROVIĆ, J.; MARKOVIĆ, J. D. *et al.* QSAR of the free radical scavenging potency of selected hydroxybenzoic acids and simple phenolics. **Comptes Rendus. Chimie**, 18, n. 5, p. 492-498, 2015.

FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80, n. 13, p. 1925-1941, 2000.

FROHLICH, P. C.; SANTOS, K. A.; ASCARI, J.; DOS SANTOS REFATI, J. R. *et al.* Antioxidant compounds and eugenol quantification of clove (*Syzygium aromaticum*) leaves extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, 196, p. 105865, 2023.

GALVÁN, S. O.; GONZÁLEZ-GARCÍA, E.; MARINA, M. L.; GARCÍA, M. C. Comparative study of factors affecting the recovery of proteins from malt rootlets using pressurized liquids and ultrasounds. **Current Research in Food Science**, 5, p. 1777-1787, 2022.

GARCIA-CLOSAS, R.; GONZALEZ, C. A.; AGUDO, A.; RIBOLI, E. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. **Cancer Causes & Control**, 10, p. 71-75, 1999.

GARCIA-CLOSAS, R.; AGUDO, A.; GONZALEZ, C. A.; RIBOLI, E. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of lung cancer in women in Barcelona, Spain. **Nutrition and Cancer**, 32, n. 3, p. 154-158, 1998.

GATES, M. A.; TWOROGER, S. S.; HECHT, J. L.; DE VIVO, I. *et al.* A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. **International Journal of Cancer**, 121, n. 10, p. 2225-2232, 2007.

GAUR, R.; SHARMA, A.; KHARE, S.; GUPTA, M. N. A novel process for extraction of edible oils: enzyme assisted three phase partitioning (EATPP). **Bioresource Technology**, 98, n. 3, p. 696-699, 2007.

GEDÜK, A. Ş.; ATSIZ, S. LC-MS/MS phenolic composition of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) extracts and an evaluation of their antidiabetic, antioxidant, and antibacterial activities. **South African Journal of Botany**, 147, p. 636-645, 2022.

GENERALIĆ MEKINIĆ, I.; SKROZA, D.; LJUBENKOV, I.; KATALINIĆ, V. *et al.* Antioxidant and antimicrobial potential of phenolic metabolites from traditionally used Mediterranean herbs and spices. **Foods**, 8, n. 11, p. 579, 2019.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). **Toxicology**, 217, n. 2-3, p. 213-220, 2006.

GUTHRIE, F.; WANG, Y.; NEEVE, N.; QUEK, S. Y. *et al.* Recovery of phenolic antioxidants from green kiwifruit peel using subcritical water extraction. **Food and Bioprocess Processing**, 122, p. 136-144, 2020.

GUTIÉRREZ-LARRAÍNZA, M.; RÚA, J.; CARO, I.; DE CASTRO, C. *et al.* Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of natural phenolic compounds against foodborne pathogens and spoilage bacteria. **Food Control**, 26, n. 2, p. 555-563, 2012.

GUZMÁN-LORITE, M.; MARINA, M.; GARCÍA, M. Pressurized liquids vs. high intensity focused ultrasounds for the extraction of proteins from a pomegranate seed waste. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 77, p. 102958, 2022.

HARA-KUDO, Y.; TAKATORI, K. Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. **Epidemiology & Infection**, 139, n. 10, p. 1505-1510, 2011.

HARUN-OR-RASHID, M.; AKTER, S.; HABIBA, U.; LABONI, F. R. *et al.* Antioxidant, antibacterial, cytotoxic and thrombolytic activities of flowers of *Mirabilis jalapa* L: possible role of phenolics and flavonoids. **Journal of Agriculture and Food Research**, 14, p. 100893, 2023.

HERRERA, M.; DE CASTRO, M. L. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. **Journal of Chromatography A**, 1100, n. 1, p. 1-7, 2005.

HIBATALLAH, J.; CARDUNER, C.; POELMAN, M. C. In-vivo and in-vitro assessment of the free-radical-scavenger activity of *Ginkgo* flavone glycosides at high concentration. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 51, n. 12, p. 1435-1440, 1999.

HO, T. C.; KIDDANE, A. T.; KHAN, F.; CHO, Y.-J. *et al.* Pressurized liquid extraction of phenolics from *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. leaves: Optimization, characterization, and biofunctional properties. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 108, p. 418-428, 2022.

HOLLMAN, P.; KATAN, M. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 51, n. 8, p. 305-310, 1997.

HONDO, M. Effects of activated carbon powder treatment on clarification, decolorization, deodorization and fructooligosaccharide content of yacon juice. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 47, p. 148-154, 2000.

HUANG, S.-Q.; DING, S.; FAN, L. Antioxidant activities of five polysaccharides from *Inonotus obliquus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, 50, n. 5, p. 1183-1187, 2012.

INNOCENTI, G.; DALL'ACQUA, S.; SOSA, S.; ALTINIER, G. *et al.* Topical anti-inflammatory activity of *Solenostemma argel* leaves. **Journal of ethnopharmacology**, 102, n. 2, p. 307-310, 2005.

INOUE, A.; TAMOGAMI, S.; KATO, H.; NAKAZATO, Y. *et al.* Antifungal melampolides from leaf extracts of *Smallanthus sonchifolius*. **Phytochemistry**, 39, n. 4, p. 845-848, 1995.

JEGANATHAN, B.; PUNYASIRI, P. N.; KOTTAWA-ARACHCHI, J. D.; RANATUNGA, M. A. *et al.* Genetic Variation of Flavonols Quercetin, Myricetin, and Kaempferol in the Sri Lankan Tea (*Camellia sinensis* L.) and Their Health-Promoting Aspects. **International Journal of Food Science**, 2016, n. 1, p. 6057434, 2016.

JIMÉNEZ, M. E.; SAMMÁN, N. Caracterización química y cuantificación de fructooligosacáridos, compuestos fenólicos y actividad antirradical de tubérculos y raíces andinos cultivados en el noroeste de Argentina. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)**, 64, n. 2, p. 131-138, 2014.

JOUNG, H.; KWON, D.-Y.; CHOI, J.-G.; SHIN, D.-Y. *et al.* Antibacterial and synergistic effects of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* under light intensity. **Journal of Natural Medicines**, 64, p. 212-215, 2010.

KAMPKÖTTER, A.; GOMBITANG NKWONKAM, C.; ZURAWSKI, R. F.; TIMPEL, C. *et al.* Effects of the flavonoids kaempferol and fisetin on thermotolerance, oxidative stress and FoxO transcription factor DAF-16 in the model organism *Caenorhabditis elegans*. **Archives of Toxicology**, 81, p. 849-858, 2007.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, 2, p. 41-60, 2009.

KHAJEHEI, F.; NIAKOUSARI, M.; SEIDI DAMYEH, M.; MERKT, N. *et al.* Impact of ohmic-assisted decoction on bioactive components extracted from yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp.) leaves: Comparison with conventional decoction. **Molecules**, 22, n. 12, p. 2043, 2017.

KHAN, F.; BAMUNUARACHCHI, N. I.; TABASSUM, N.; KIM, Y.-M. Caffeic acid and its derivatives: antimicrobial drugs toward microbial pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 69, n. 10, p. 2979-3004, 2021.

KHATAEI, M. M.; EPI, S. B. H.; LOOD, R.; SPÉGEL, P. *et al.* A review of green solvent extraction techniques and their use in antibiotic residue analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 209, p. 114487, 2022.

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A.; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, 18, n. 2, p. 2328-2375, 2013.

KIKUZAKI, H.; HISAMOTO, M.; HIROSE, K.; AKIYAMA, K. *et al.* Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, n. 7, p. 2161-2168, 2002.

KO, M.-J.; CHEIGH, C.-I.; CHO, S.-W.; CHUNG, M.-S. Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin. **Journal of Food Engineering**, 102, n. 4, p. 327-333, 2011.

KRAMBERGER, K.; BARLIČ-MAGANJA, D.; BANDELJ, D.; BARUCA ARBEITER, A. *et al.* HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS determination of bioactive compounds and antioxidant activity comparison of the hydroalcoholic and water extracts from two *Helichrysum italicum* species. **Metabolites**, 10, n. 10, p. 403, 2020.

KULBAT, K. The role of phenolic compounds in plant resistance. **Biotechnology and Food Science**, 80, n. 2, p. 97-108, 2016.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology reports**, 24, p. e00370, 2019.

LANG, Y.; GAO, N.; ZANG, Z.; MENG, X. *et al.* Classification and antioxidant assays of polyphenols: A review. **Journal of Future Foods**, 4, n. 3, p. 193-204, 2024.

- LEFEBVRE, T.; DESTANDAU, E.; LESELLIER, E. Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. **Journal of Chromatography A**, 1635, p. 461770, 2021.
- LEIDI, E. O.; ALTAMIRANO, A. M.; MERCADO, G.; RODRIGUEZ, J. P. *et al.* Andean roots and tubers crops as sources of functional foods. **Journal of Functional Foods**, 51, p. 86-93, 2018.
- LESJAK, M.; BEARA, I.; SIMIN, N.; PINTAĆ, D. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. **Journal of Functional Foods**, 40, p. 68-75, 2018.
- LI, D.; RUI, Y.-X.; GUO, S.-D.; LUAN, F. *et al.* Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives. **Life Sciences**, 284, p. 119921, 2021.
- LIM, Y.-H.; KIM, I.-H.; SEO, J.-J. In vitro activity of kaempferol isolated from the Impatiens balsamina alone and in combination with erythromycin or clindamycin against *Propionibacterium acnes*. **The Journal of Microbiology**, 45, n. 5, p. 473-477, 2007.
- LIMA, E. M. F.; WINANS, S. C.; PINTO, U. M. Quorum sensing interference by phenolic compounds—A matter of bacterial misunderstanding. **Heliyon**, 9, n. 7, 2023.
- LIN, F.; HASEGAWA, M.; KODAMA, O. Purification and identification of antimicrobial sesquiterpene lactones from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 67, n. 10, p. 2154-2159, 2003.
- LIU, T. Z.; CHIN, N.; KISER, M.; BIGLER, W. Specific spectrophotometry of ascorbic acid in serum or plasma by use of ascorbate oxidase. **Clinical Chemistry**, 28, n. 11, p. 2225-2228, 1982.
- MACHADO, A. P. D. F.; PASQUEL-REÁTEGUI, J. L.; BARBERO, G. F.; MARTÍNEZ, J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: a comparison with conventional methods. **Food Research International**, 77, p. 675-683, 2015.
- MACHADO, T. O. X.; PORTUGAL, I.; DE A.C. KODEL, H.; FATHI, A. *et al.* Pressurized liquid extraction as an innovative high-yield greener technique for phenolic compounds recovery from grape pomace. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, 40, p. 101635, 2024.
- MAGNANI, C.; ISAAC, V. L. B.; CORREA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. **Analytical methods**, 6, n. 10, p. 3203-3210, 2014.
- MANCUSO, C.; SANTANGELO, R. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. **Food and Chemical Toxicology**, 65, p. 185-195, 2014.
- MARTINS, N.; BARROS, L.; HENRIQUES, M.; SILVA, S. *et al.* Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. **Industrial Crops and Products**, 74, p. 648-670, 2015.

MASON, T. J. Uses of power ultrasound in chemistry and processing. **Applied sonochemistry**, 2002.

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial resistance: a one health perspective. **Antimicrobial resistance in bacteria from livestock and companion animals**, p. 521-547, 2018.

MEDEIROS, K. C. D. P.; FAUSTINO, L.; BORDUCHI, E.; NASCIMENTO, R. *et al.* Preventive and curative glycoside kaempferol treatments attenuate the TH2-driven allergic airway disease. **International Immunopharmacology**, 9, n. 13-14, p. 1540-1548, 2009.

MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001–2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, 7, n. 4-5, p. 321-330, 2003.

MEIRELES, M. A. A. Extraction of bioactive compounds from Latin American plants. *In: Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*: CRC Press–Taylor & Francis Group Boca Raton, 2008. p. 243-274.

MELLO, B. C. B. S.; MALARSKI, A.; BÖHM, V. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Pulp, Peel and Seeds from Jeriva (*Syagrus romanzoffiana*). **Antioxidants**, 13, n. 6, p. 711, 2024.

MENG, S.; CAO, J.; FENG, Q.; PENG, J. *et al.* Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013, n. 1, p. 801457, 2013.

MEYER, A. S.; DONOVAN, J. L.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. L. *et al.* Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46, n. 5, p. 1783-1787, 1998.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V. *et al.* A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science (London, England: 1979)**, 84, n. 4, p. 407-412, 1993.

MÖCKEL, H.; WELTER, G.; MELZER, H. Correlation between reversed-phase retention and solute molecular surface type and area: I. Theoretical outlines and retention of various hydrocarbon classes. **Journal of Chromatography A**, 388, p. 255-266, 1987.

MORALES-GONZALEZ, J. A. **Oxidative stress and chronic degenerative diseases: A role for antioxidants**. BoD–Books on Demand, 2013. 953511123X.

MORENO, I. F.; GRIMALDI, R.; STRIEDER, M. M.; ROSTAGNO, M. A. *et al.* Sequential supercritical fluid and pressurized liquid extraction of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almonds. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, 43, p. 101902, 2025.

MOTA, F. L.; QUEIMADA, A. J.; PINHO, S. P.; MACEDO, E. A. Aqueous solubility of some natural phenolic compounds. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 47, n. 15, p. 5182-5189, 2008.

MUGHAL, A.; JABEEN, N.; ASHRAF, K.; SULTAN, K. *et al.* Exploring the Role of Caffeic Acid in Mitigating Abiotic Stresses in Plants: A Review. **Plant Stress**, p. 100487, 2024.

MUROTA, K.; TERAOKA, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. **Archives of biochemistry and biophysics**, 417, n. 1, p. 12-17, 2003.

MURRAY, C. J.; IKUTA, K. S.; SHARARA, F.; SWETSCHINSKI, L. *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

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

NADAR, S. S.; RAO, P.; RATHOD, V. K. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. **Food Research International**, 108, p. 309-330, 2018.

NALIYADHARA, N.; KUMAR, A.; GIRISA, S.; DAIMARY, U. D. *et al.* Pulsed electric field (PEF): Avant-garde extraction escalation technology in food industry. **Trends in Food Science & Technology**, 122, p. 238-255, 2022.

NAVEED, M.; HEJAZI, V.; ABBAS, M.; KAMBOH, A. A. *et al.* Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & pharmacotherapy**, 97, p. 67-74, 2018.

NAWAR, W. W. Thermal degradation of lipids. **Journal of agricultural and food chemistry**, 17, n. 1, p. 18-21, 1969.

NDLELA, S.; DE MOURA, J.; OLSON, N.; JOHNSON, L. Aqueous extraction of oil and protein from soybeans with subcritical water. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 89, p. 1145-1153, 2012.

NGUYEN, T. L. A.; BHATTACHARYA, D. Antimicrobial activity of quercetin: an approach to its mechanistic principle. **Molecules**, 27, n. 8, p. 2494, 2022.

NÖTHLINGS, U.; MURPHY, S. P.; WILKENS, L. R.; HENDERSON, B. E. *et al.* Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study. **American journal of epidemiology**, 166, n. 8, p. 924-931, 2007.

OHYAMA, T.; ITO, O.; YASUYOSHI, S.; IKARASHI, T. *et al.* Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Soil Science and Plant Nutrition**, 36, n. 1, p. 167-171, 1990.

OLIVEIRA, A. M. B.; VIGANÓ, J.; SANCHES, V. L.; ROSTAGNO, M. A. *et al.* Extraction of potential bioactive compounds from industrial Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tan.) by-product using pressurized liquids and ultrasound-assisted extraction. **Food Research International**, 157, p. 111381, 2022.

OLIVEIRA, D. M. D.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, 34, p. 1051-1056, 2011.

OLIVEIRA, R. B.; CHAGAS-PAULA, D. A.; SECATTO, A.; GASPAROTO, T. H. *et al.* Topical anti-inflammatory activity of yacon leaf extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 23, n. 3, p. 497-505, 2013.

OTHMAN, A.; ISMAIL, A.; GHANI, N. A.; ADENAN, I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Food chemistry**, 100, n. 4, p. 1523-1530, 2007.

OTSUKA, N.; LIU, M.-H.; SHIOTA, S.; OGAWA, W. *et al.* Anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) compounds isolated from *Laurus nobilis*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 31, n. 9, p. 1794-1797, 2008.

OU, B.; CHANG, T.; HUANG, D.; PRIOR, R. L. Determination of total antioxidant capacity by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using fluorescein as the fluorescence probe: First action 2012.23. **Journal of AOAC International**, 96, n. 6, p. 1372-1376, 2013.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, n. 10, p. 4619-4626, 2001.

PACHECO-ORDAZ, R.; WALL-MEDRANO, A.; GOÑI, M. G.; RAMOS-CLAMONT-MONTFORT, G. *et al.* Effect of phenolic compounds on the growth of selected probiotic and pathogenic bacteria. **Letters in Applied Microbiology**, 66, n. 1, p. 25-31, 2018.

PACZKOWSKI, J. E.; MUKHERJEE, S.; MCCREADY, A. R.; CONG, J.-P. *et al.* Flavonoids suppress *Pseudomonas aeruginosa* virulence through allosteric inhibition of quorum-sensing receptors. **Journal of Biological Chemistry**, 292, n. 10, p. 4064-4076, 2017.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, 5, p. e47, 2016.

PAWLISZYN, J. Sample preparation: quo vadis? **Analytical chemistry**, 75, n. 11, p. 2543-2558, 2003.

PEREIRA, D. T. V.; TARONE, A. G.; CAZARIN, C. B. B.; BARBERO, G. F. *et al.* Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. **Journal of Food Engineering**, 240, p. 105-113, 2019.

PHONGTHAI, S.; LIM, S.-T.; RAWDKUEN, S. Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. **Journal of Cereal Science**, 70, p. 146-154, 2016.

PIMPLEY, V.; PATIL, S.; SRINIVASAN, K.; DESAI, N. *et al.* The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. **Preparative biochemistry & biotechnology**, 50, n. 10, p. 969-978, 2020.

PRIEGO-CAPOTE, F. Solid-liquid extraction techniques. *In: Analytical sample preparation with nano-and other high-performance materials*: Elsevier, 2021. p. 111-130.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

RAMÍREZ-BREWER, D.; QUINTANA-MARTINEZ, S. E.; GARCÍA-ZAPATEIRO, L. A. Obtaining and characterization of natural extracts from mango (*Mangifera Indica*) peel and its effect on the rheological behavior in new mango kernel starch hydrogels. **Food Chemistry**, 462, p. 140949, 2025.

RAMOS, L.; KRISTENSON, E. M.; BRINKMAN, U. T. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, 975, n. 1, p. 3-29, 2002.

RASPE, D. T.; DA SILVA, C.; DA COSTA, S. C. Pressurized liquid extraction of compounds from Stevia leaf: Evaluation of process variables and extract characterization. **The Journal of Supercritical Fluids**, 193, p. 105813, 2023.

RECHNER, A. R.; PANNALA, A. S.; RICE-EVANS, C. A. Caffeic acid derivatives in artichoke extract are metabolised to phenolic acids in vivo. **Free Radical Research**, 35, n. 2, p. 195-202, 2001.

RICE-EVANS, C. A.; PACKER, L. **Flavonoids in health and disease**. CRC Press, 2003. 143985811X.

RICHTER, B. E.; JONES, B. A.; EZZELL, J. L.; PORTER, N. L. *et al.* Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. **Analytical Chemistry**, 68, n. 6, p. 1033-1039, 1996.

RIVERO-PÉREZ, M. D.; MUNIZ, P.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, n. 14, p. 5476-5483, 2007.

RODRIGUES, V. M.; ROSA, P. T.; MARQUES, M. O.; PETENATE, A. J. *et al.* Supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum* L) using CO₂: solubility, kinetics, and composition data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, n. 6, p. 1518-1523, 2003.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, 19, n. 6, p. 402-420, 1996.

ROYANI, A.; HANAFI, M.; JULISTIONO, H.; MANAF, A. The total phenolic and flavonoid contents of Aloe vera and Morinda citrifolia extracts as antibacterial material against *Pseudomonas aeruginosa*. **Materials Today: Proceedings**, 72, p. 2796-2802, 2023.

RUDKE, C. R. M.; TORRES, T. M. S.; ZIELINSKI, A. A. F.; FERREIRA, S. R. S. Comparing green extraction methods for the recovery of protein-rich fraction from peach seeds (*Prunus persica*). **Food Hydrocolloids**, 153, p. 109991, 2024.

RUIZ-JIMÉNEZ, J.; PRIEGO-CAPOTE, F.; DE CASTRO, M. L. Identification and quantification of trans fatty acids in bakery products by gas chromatography–mass spectrometry after dynamic ultrasound-assisted extraction. **Journal of chromatography A**, 1045, n. 1-2, p. 203-210, 2004.

RUSSO, D.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; FERNANDEZ, E. C. *et al.* Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. **International journal of molecular sciences**, 16, n. 8, p. 17696-17718, 2015.

SABATER-MOLINA, M.; LARQUÉ, E.; TORRELLA, F.; ZAMORA, S. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. **Journal of physiology and biochemistry**, 65, p. 315-328, 2009.

SAINI, N.; ANMOL, A.; KUMAR, S.; BAKSHI, M. *et al.* Exploring Phenolic Compounds as Natural Stress Alleviators in Plants-A Comprehensive Review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, p. 102383, 2024.

SANTANA, I.; CARDOSO, M. H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência rural**, 38, p. 898-905, 2008.

SANTOS, P. H.; KAMMERS, J. C.; SILVA, A. P.; OLIVEIRA, J. V. *et al.* Antioxidant and antibacterial compounds from feijoa leaf extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **Food Chemistry**, 344, p. 128620, 2021.

SANZ, M.; FERRANDIZ, M.; CEJUDO, M.; TERCENIO, M. C. *et al.* Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress. **Xenobiotica**, 24, n. 7, p. 689-699, 1994.

SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K. *et al.* Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African journal of traditional, complementary and alternative medicines**, 8, n. 1, 2011.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C. *et al.* Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical reviews in food science and nutrition**, 45, n. 4, p. 287-306, 2005.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. **Journal of functional foods**, 18, p. 782-796, 2015.

SCHORR, K.; MERFORT, I.; DA COSTA, F. B. A novel dimeric melampolide and further terpenoids from *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) and the inhibition of the transcription factor NF- κ B. **Natural product communications**, 2, n. 4, p. 1934578X0700200404, 2007.

SENHAJI, S.; LAMCHOURI, F.; BOULFIA, M.; LACHKAR, N. *et al.* Mineral composition, content of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of the seeds of *Peganum harmala* L. **South African Journal of Botany**, 147, p. 697-712, 2022.

SEREEWATTHANAWUT, I.; PRAPINTIP, S.; WATCHIRARUJI, K.; GOTO, M. *et al.* Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. **Bioresource technology**, 99, n. 3, p. 555-561, 2008.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity in food and biological systems. *In: : ACS Publications*, 2007.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. **Chemical society reviews**, 39, n. 11, p. 4067-4079, 2010.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of functional foods**, 18, p. 757-781, 2015.

SIKDAR, B.; MUKHERJEE, S.; BHATTACHARYA, R.; RAJ, A. *et al.* The anti-quorum sensing and biofilm inhibitory potential of Piper betle L. leaf extract and prediction of the roles of the potent phytochemicals. **Microbial Pathogenesis**, 195, p. 106864, 2024.

SILVA, M. D. F. G. D.; DIONÍSIO, A. P.; DE ABREU, F. A. P.; DE BRITO, E. S. *et al.* Evaluation of nutritional and chemical composition of yacon syrup using ¹H NMR and UPLC-ESI-Q-TOF-MSE. **Food Chemistry**, 245, p. 1239-1247, 2018.

ŠIMAT, V.; ČAGALJ, M.; MEKINIĆ, I. G.; MOŽINA, S. S. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of extracts from selected Mediterranean agro-food by-products, their mutual interaction and interaction with phenolic compounds. **Food Bioscience**, p. 104599, 2024.

SIMONOVSKA, B.; VOVK, I.; ANDRENŠEK, S.; VALENTOVÁ, K. *et al.* Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography A**, 1016, n. 1, p. 89-98, 2003.

SINGH, R.; SARKER, B.; KUMBHAR, B.; AGRAWAL, Y. *et al.* Response surface analysis of enzyme assisted oil extraction factors for sesame, groundnut and sunflower seeds. **Journal of Food Science and Technology (Mysore)**, 36, n. 6, p. 511-514, 1999.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In: Methods in Enzymology*: Elsevier, 1999. v. 299, p. 152-178.

SMITH, R. M. Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. **Journal of Chromatography A**, 1000, n. 1-2, p. 3-27, 2003.

SOSA-FERRERA, Z.; MAHUGO-SANTANA, C.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J. Analytical methodologies for the determination of endocrine disrupting compounds in biological and environmental samples. **BioMed Research International**, 2013, n. 1, p. 674838, 2013.

SOXHLET, F. V. Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. **Polytechnisches Journal**, 232, n. 5, p. 461-465, 1879.

TADAPANENI, R. K. **Effect of High Pressure Processing & Dairy on the Antioxidant Activity of Strawberry Based Beverages**. 2010. -, Illinois Institute of Technology.

TAN, L. Y.; YIN, W.-F.; CHAN, K.-G. Silencing quorum sensing through extracts of *Melicope lunu-ankenda*. **Sensors**, 12, n. 4, p. 4339-4351, 2012.

TERADA, S.; ITO, K.; YOSHIMURA, A.; NOGUCHI, N. *et al.* Constituents relating to anti-oxidative and alpha-glucosidase inhibitory activities in yacon aerial part extract. **Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan**, 126, n. 8, p. 665-669, 2006.

TOEPFL, S.; MATHYS, A.; HEINZ, V.; KNORR, D. Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. **Food Reviews International**, 22, n. 4, p. 405-423, 2006.

TOKITA, N.; NARAI-KANAYAMA, A.; KURITA, T.; IWASAKI, E. Effects of planting density and fertilizer type on growth and yield of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tubers. **Asian Journal of Plant Science & Research**, 2011.

TYLEWICZ, U. How does pulsed electric field work? *In: Pulsed electric fields to obtain healthier and sustainable food for tomorrow*: Elsevier, 2020. p. 3-21.

VALENTOVA, K.; CVAK, L.; MUCK, A.; ULRICHOVA, J. *et al.* Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. **European Journal of Nutrition**, 42, p. 61-66, 2003.

VALENTOVÁ, K.; MONCION, A.; DE WAZIERS, I.; ULRICHOVA, J. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts on rat hepatic metabolism. **Cell Biology and Toxicology**, 20, p. 109-120, 2004.

VALENTOVÁ, K.; ŠERŠEŇ, F.; ULRICHOVÁ, J. Radical scavenging and anti-lipoperoxidative activities of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, n. 14, p. 5577-5582, 2005.

VALENTOVÁ, K.; ULRICHOVÁ, J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*-prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. **Biomedical Papers**, 147, n. 2, p. 119-130, 2003.

VANKAR, P. S. Essential oils and fragrances from natural sources. **Resonance**, 9, p. 30-41, 2004.

VENDITTI, A.; BIANCO, A.; FREZZA, C.; CONTI, F. *et al.* Essential oil composition, polar compounds, glandular trichomes and biological activity of *Hyssopus officinalis* subsp. *aristatus* (Godr.) Nyman from central Italy. **Industrial Crops and Products**, 77, p. 353-363, 2015.

VERMA, A. R.; VIJAYAKUMAR, M.; MATHELA, C. S.; RAO, C. V. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. **Food and Chemical Toxicology**, 47, n. 9, p. 2196-2201, 2009.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Springer Science & Business Media, 2007. 1402051646.

VIGANÓ, J.; AGUIAR, A. C.; MORAES, D. R.; JARA, J. L. *et al.* Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse. **Food Research International**, 85, p. 51-58, 2016a.

VIGANÓ, J.; BRUMER, I. Z.; DE CAMPOS BRAGA, P. A.; DA SILVA, J. K. *et al.* Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. **Food and Bioproducts Processing**, 100, p. 382-390, 2016b.

VIGANÓ, J.; DE AGUIAR, A. C.; VEGGI, P. C.; SANCHES, V. L. *et al.* Techno-economic evaluation for recovering phenolic compounds from acai (*Euterpe oleracea*) by-product by pressurized liquid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, 179, p. 105413, 2022.

VILLACRÉS, E.; RUBIO, A.; CUADRADO, L.; MARCIAL, N. *et al.* **Jicama: raiz andina con propiedades nutraceuticas**. 2007.

VINATORU, M.; TOMA, M.; RADU, O.; FILIP, P. *et al.* The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. **Ultrasonics Sonochemistry**, 4, n. 2, p. 135-139, 1997.

VIŠNJEVEC, A. M.; BARP, L.; LUCCI, P.; MORET, S. Pressurized liquid extraction for the determination of bioactive compounds in plants with emphasis on phenolics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, p. 117620, 2024.

WALDEBÄCK, M. **Pressurized fluid extraction: a sustainable technique with added values**. 2005. -, Acta Universitatis Upsaliensis.

WANG, X.; CHEN, Q.; LÜ, X. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. **Food Hydrocolloids**, 38, p. 129-137, 2014.

WEN, C.; ZHANG, J.; ZHANG, H.; DZAH, C. S. *et al.* Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops—A review. **Ultrasonics sonochemistry**, 48, p. 538-549, 2018.

XU, H. X.; LEE, S. F. Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, 15, n. 1, p. 39-43, 2001.

YANG, C. S.; LEE, M.-J.; CHEN, L.; YANG, G.-Y. Polyphenols as inhibitors of carcinogenesis. **Environmental Health Perspectives**, 105, n. suppl 4, p. 971-976, 1997.

ZDUŃSKA, K.; DANA, A.; KOŁODZIEJCZAK, A.; ROTSZTEJN, H. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. **Skin Pharmacology and Physiology**, 31, n. 6, p. 332-336, 2018.

ZHANG, L.; CHANG, C.; LIU, Y.; CHEN, Z. Effect of chlorogenic acid on disordered glucose and lipid metabolism in db/db mice and its mechanism. **Zhongguo yi xue ke xue Yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae**, 33, n. 3, p. 281-286, 2011.

ZHENG, Y.-Z.; CHEN, D.-F.; DENG, G.; GUO, R. *et al.* The antioxidative activity of piceatannol and its different derivatives: Antioxidative mechanism analysis. **Phytochemistry**, 156, p. 184-192, 2018.

ZHENG, Y.-Z.; DENG, G.; CHEN, D.-F.; GUO, R. *et al.* The influence of C2=C3 double bond on the antiradical activity of flavonoid: Different mechanisms analysis. **Phytochemistry**, 157, p. 1-7, 2019.

ZIERO, H. D. D.; BULLER, L. S.; MUDHOO, A.; AMPESE, L. C. *et al.* An overview of subcritical and supercritical water treatment of different biomasses for protein and amino acids production and recovery. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 8, n. 5, p. 104406, 2020.

ZIMMERMANN, U.; PILWAT, G.; RIEMANN, F. Dielectric breakdown of cell membranes. **Biophysical Journal**, 14, n. 11, p. 881-899, 1974.

ANEXO I

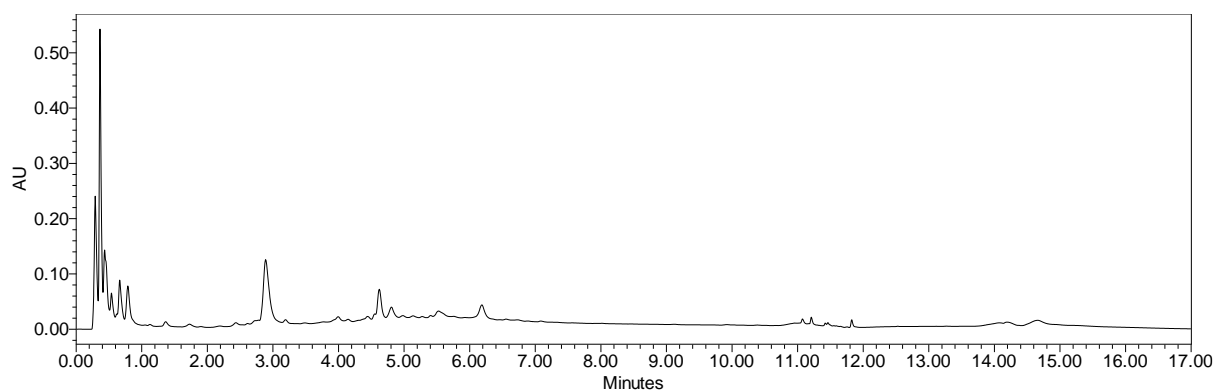


Figura 1. Cromatograma do extrato obtido com água a 60 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

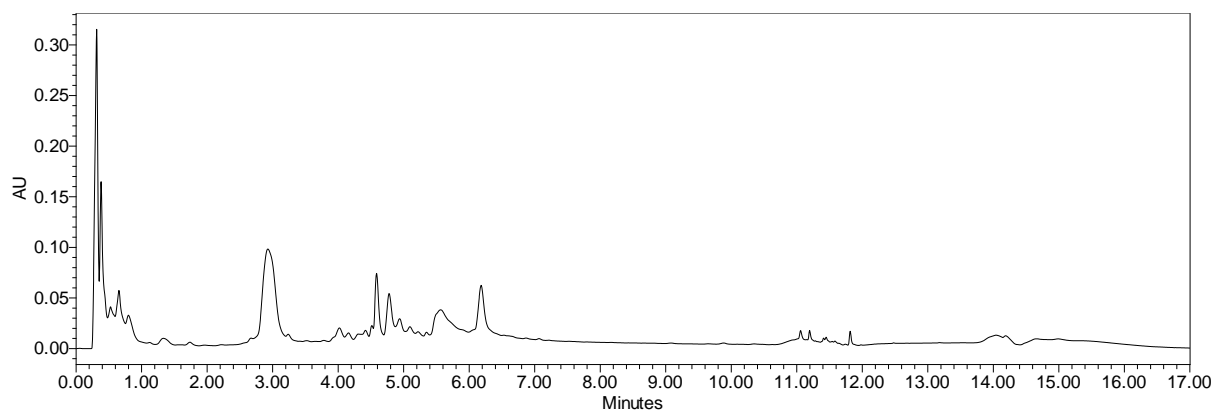


Figura 2. Cromatograma do extrato obtido com etanol a 25% a 60 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

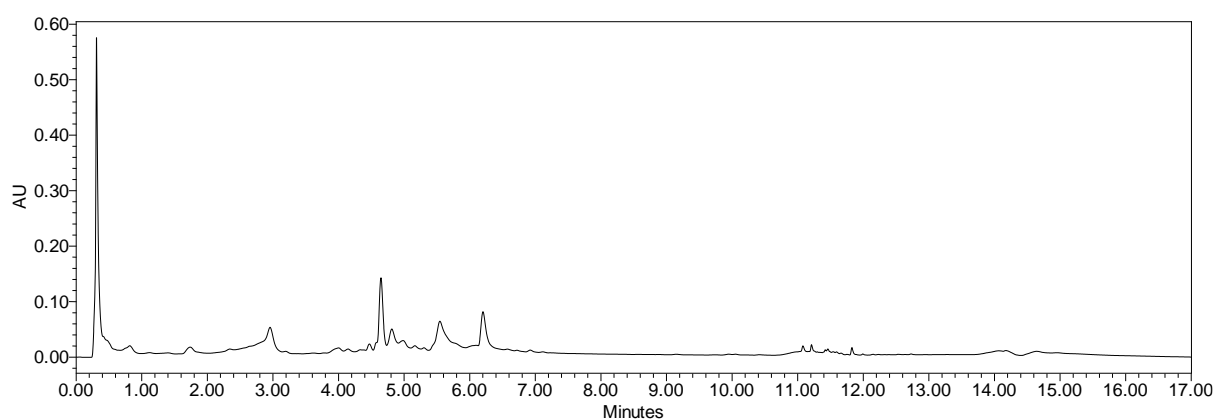


Figura 3. Cromatograma do extrato obtido com etanol a 50% a 60 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

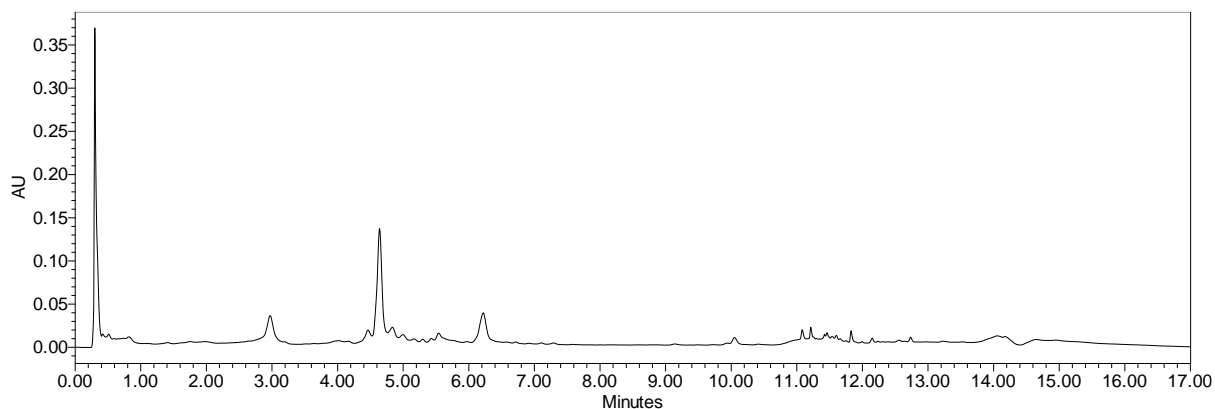


Figura 4. Cromatograma do extrato obtido com etanol a 75% a 60 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

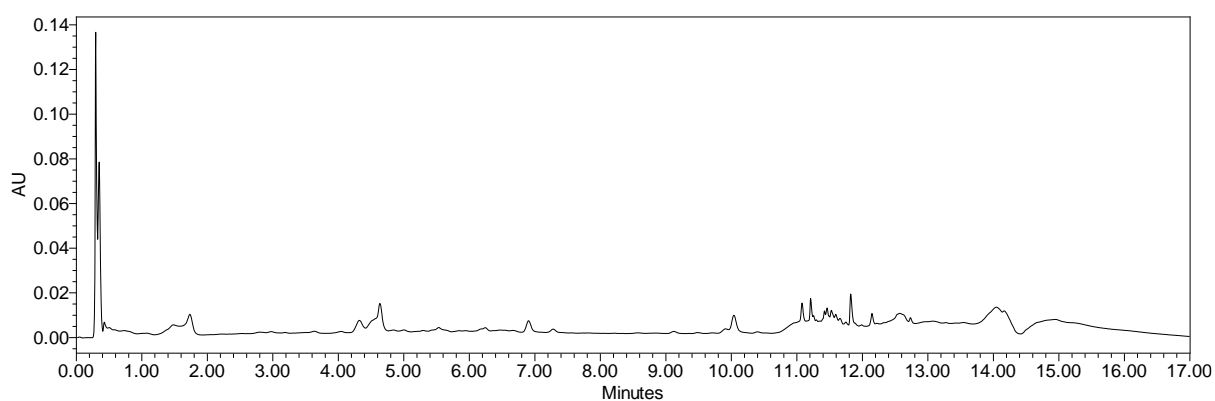


Figura 5. Cromatograma do extrato obtido com etanol a 100% a 60 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

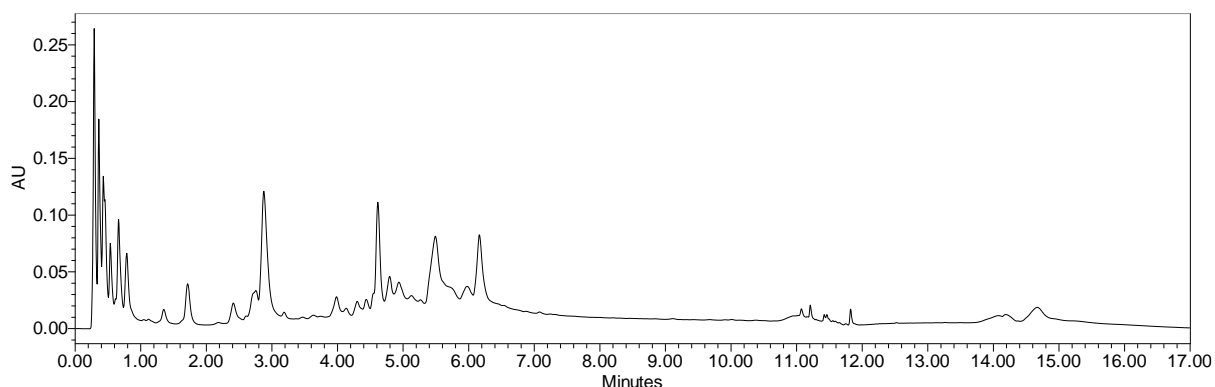


Figura 6. Cromatograma do extrato obtido com água a 90 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

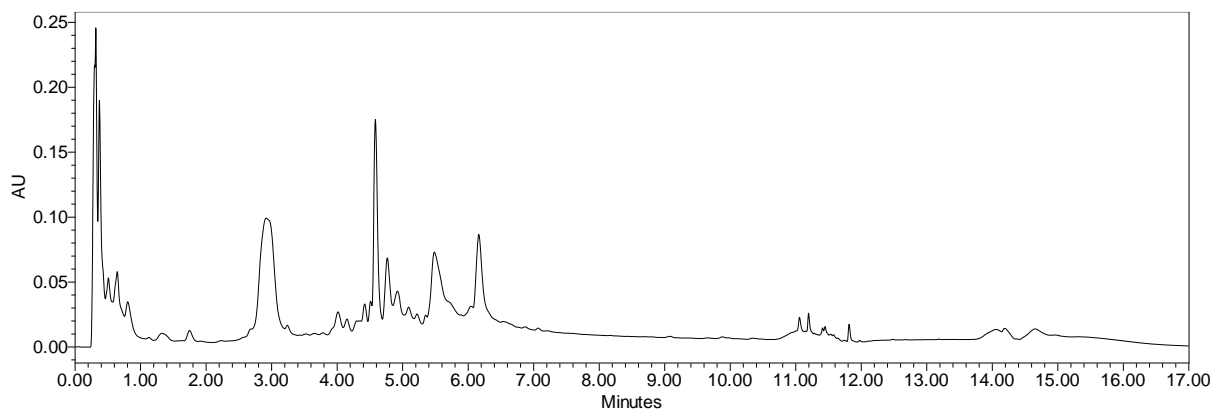


Figura 7. Cromatograma do extrato obtido com 25% de etanol a 90 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

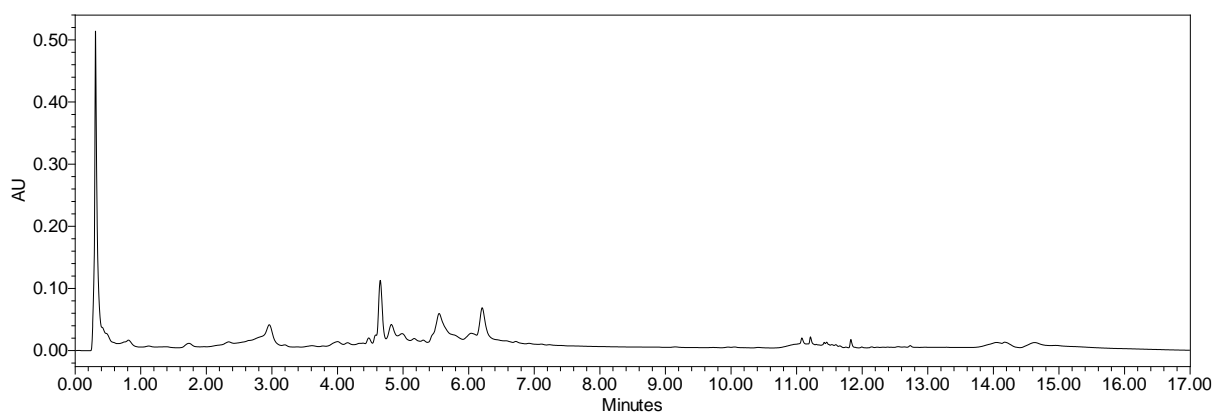


Figura 8. Cromatograma do extrato obtido com 50% de etanol a 90 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

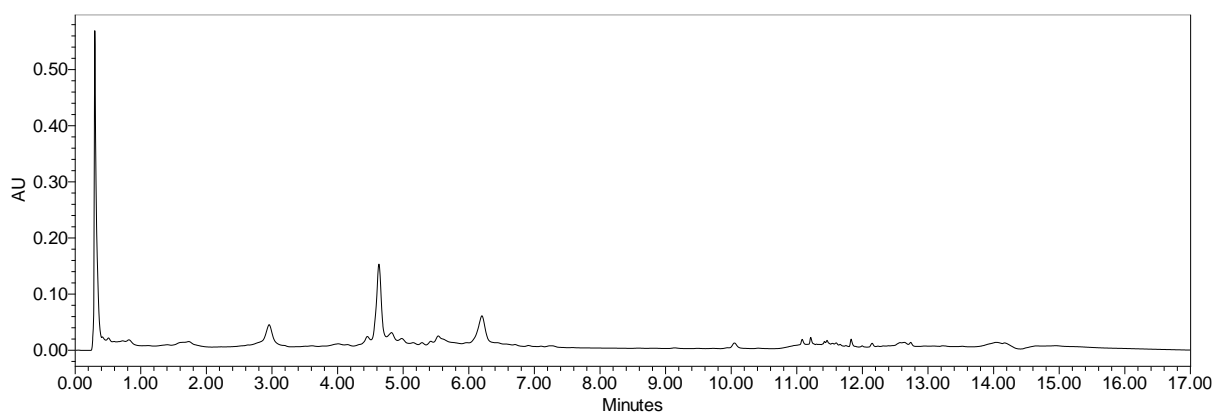


Figura 9. Cromatograma do extrato obtido com 75% de etanol a 90 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

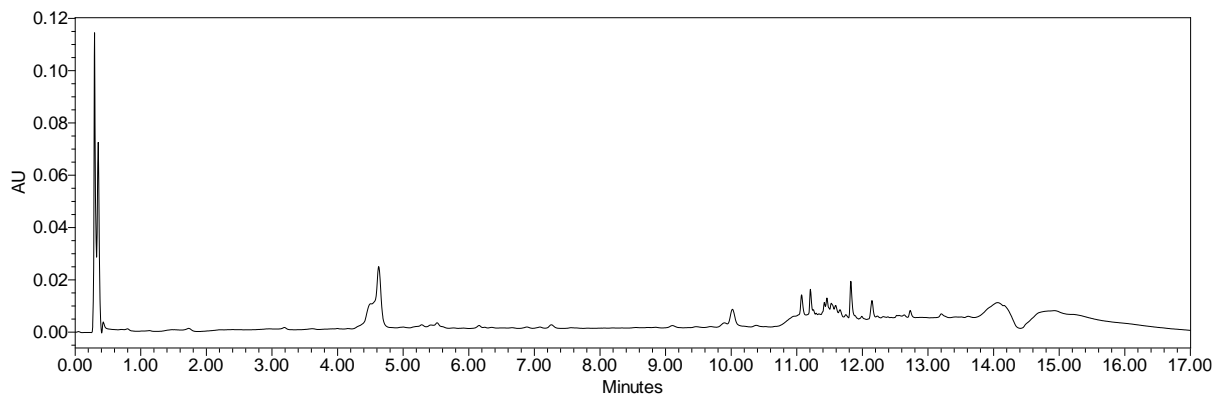


Figura 10. Cromatograma do extrato obtido com 100% de etanol a 90 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

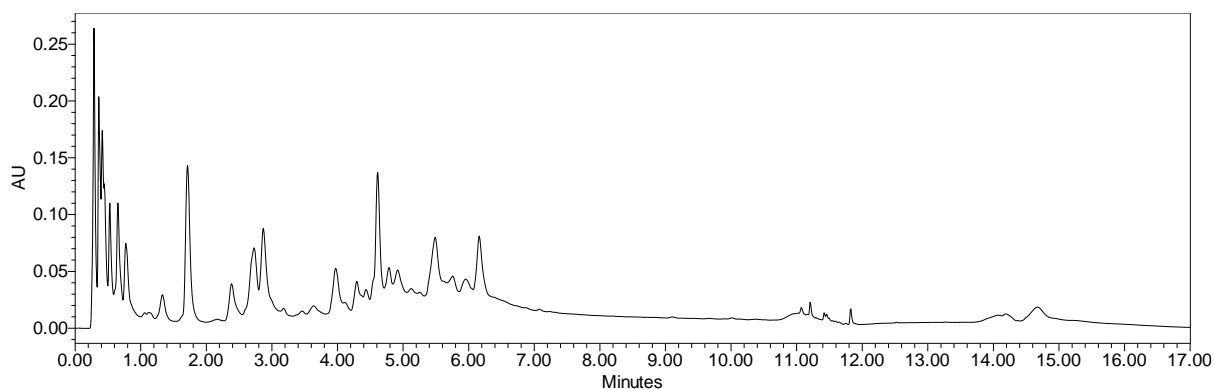


Figura 11. Cromatograma do extrato obtido com água a 120 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

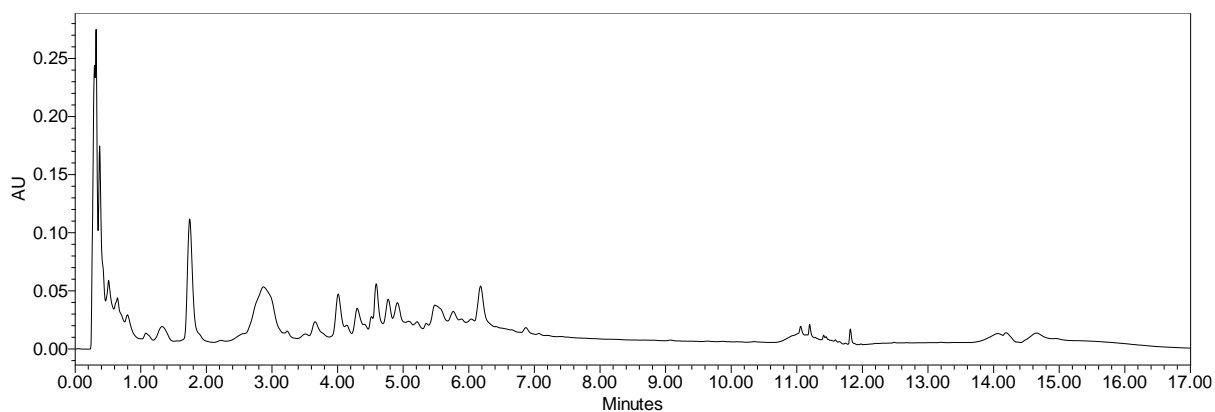


Figura 12. Cromatograma do extrato obtido com 25% de etanol a 120 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

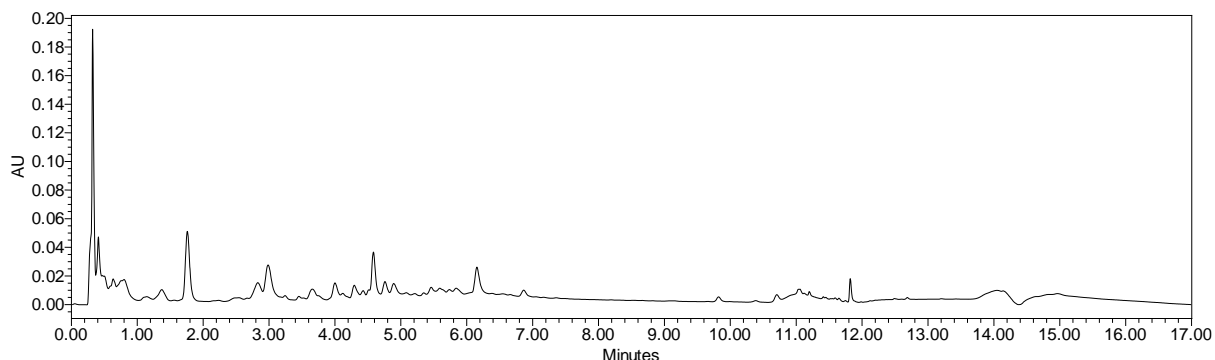


Figura 13. Cromatograma do extrato obtido com 50% de etanol a 120 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

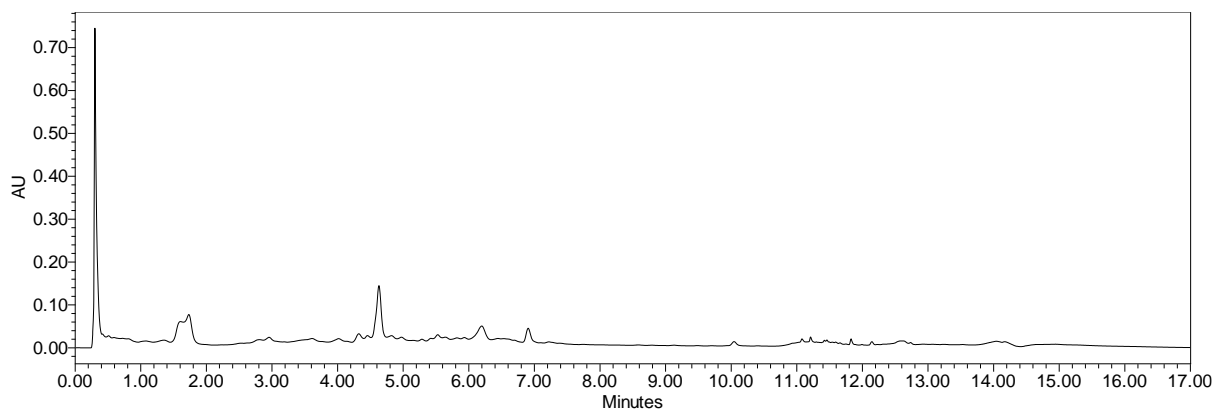


Figura 14. Cromatograma do extrato obtido com 75% de etanol a 120 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

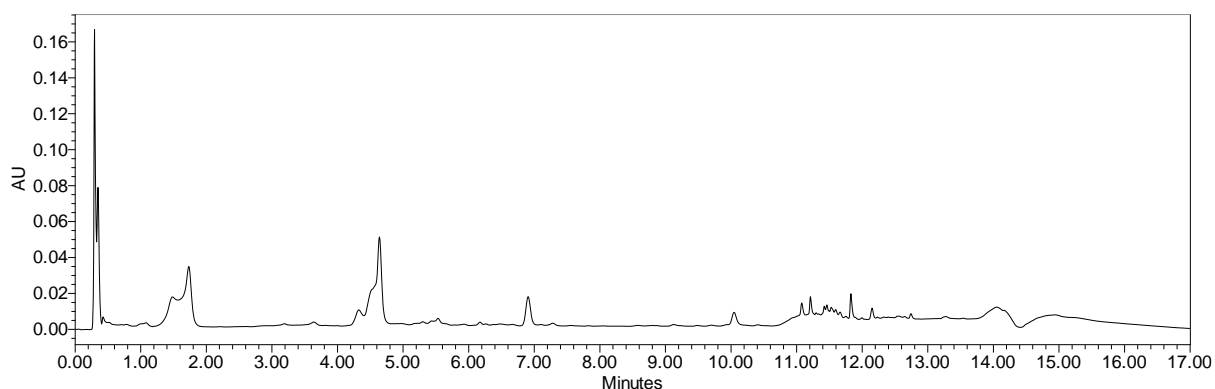


Figura 15. Cromatograma do extrato obtido com 100% de etanol a 120 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

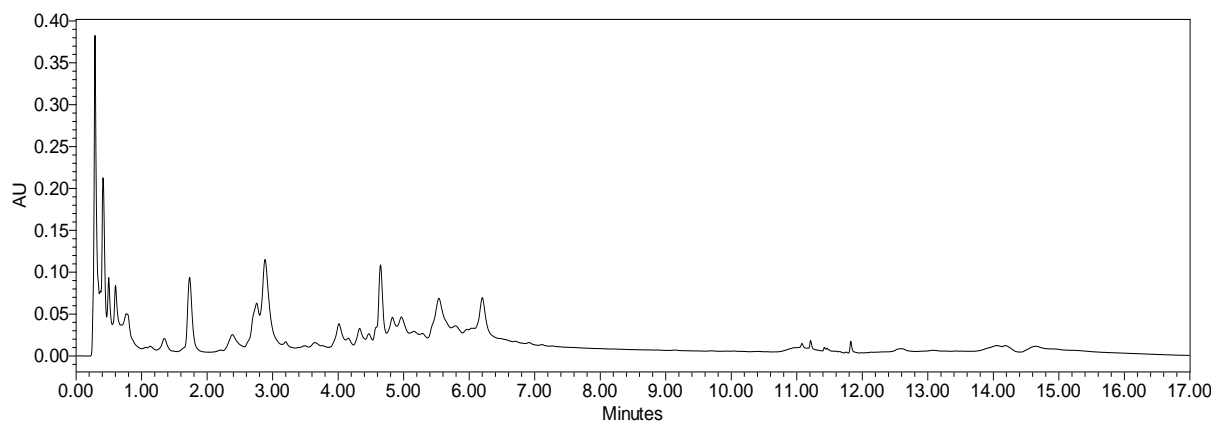


Figura 16. Cromatograma do extrato obtido com água a 110 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

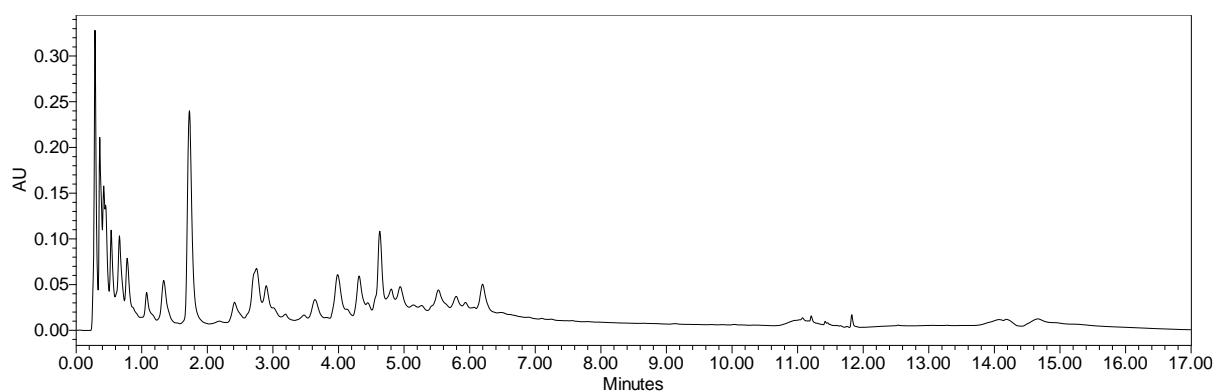


Figura 17. Cromatograma do extrato obtido com água a 130 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

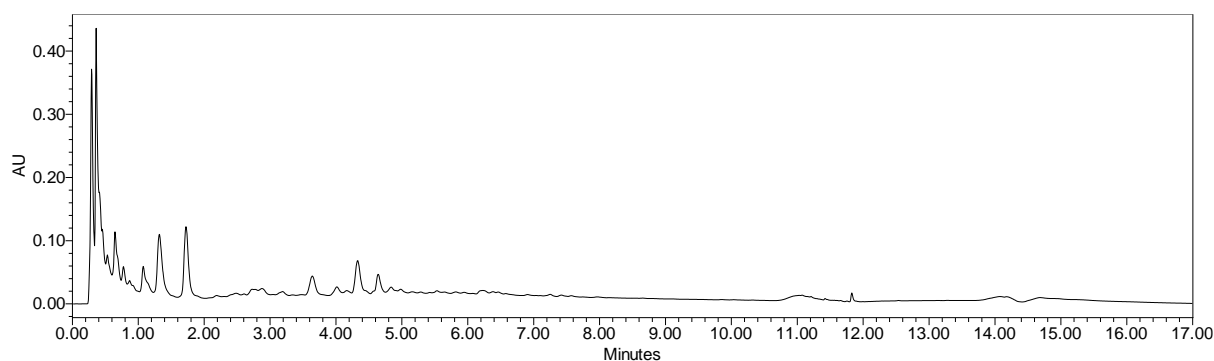


Figura 18. Cromatograma do extrato obtido com água a 150 °C, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

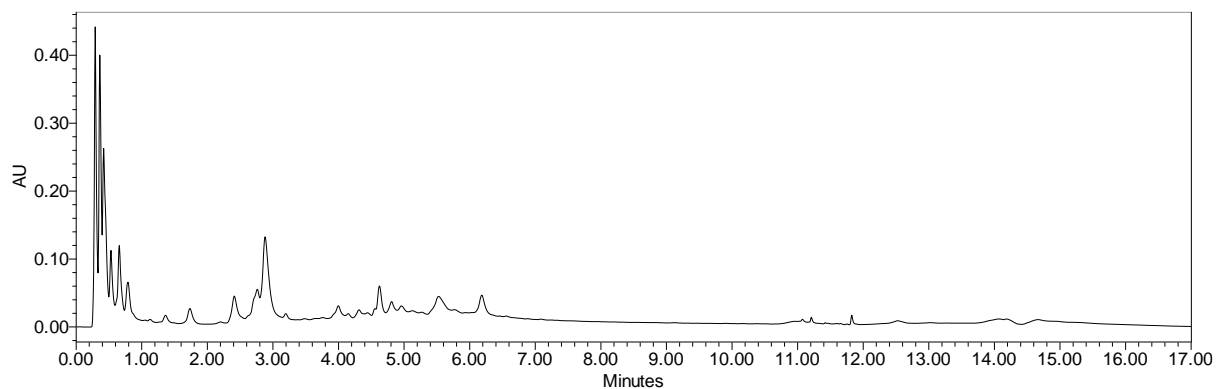


Figura 19. Cromatograma do extrato obtido com água por Soxhlet, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).

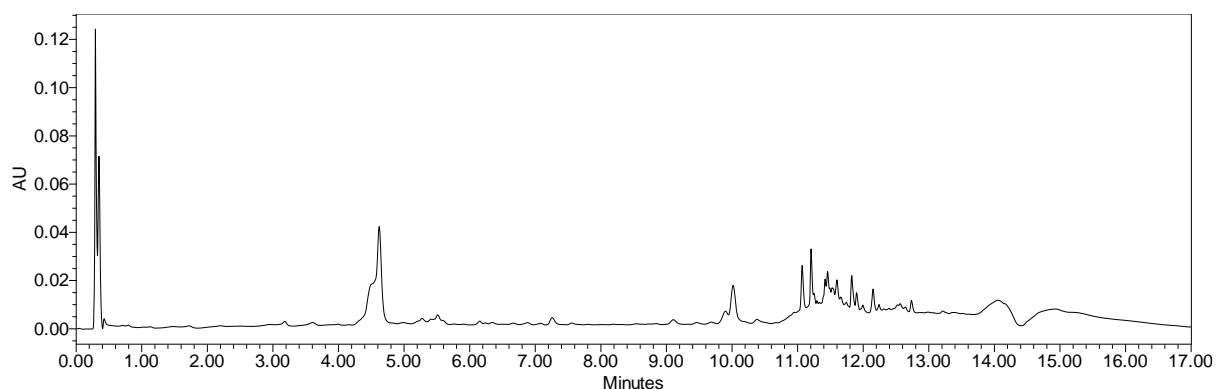


Figura 20. Cromatograma do extrato obtido com 100% de etanol por Soxhlet, mostrando os picos dos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de yacon. Os polifenóis isolados foram identificados por cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a detector de arranjo de diodos (UPLC-PDA), associada à espectrometria de massas (MS).