



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE  
ALIMENTOS  
DOUTORADO INTERINSTITUCIONAL (DINTER)**

**COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
DE EXTRATOS DA CASCA DO UMBU (*SPONDIAS TUBEROSA*  
ARRUDA) OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS**

**MARCELO IRAN DE SOUZA COELHO**

**FLORIANÓPOLIS  
2015**





**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE  
ALIMENTOS  
DOUTORADO INTERINSTITUCIONAL (DINTER)**

Marcelo Iran de Souza Coelho

**COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
DE EXTRATOS DA CASCA DO UMBU (*SPONDIAS TUBEROSA*  
ARRUDA) OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

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

Orientador: Prof. Dr. Haiko Hense

Coorientadores: Prof. Dr. Rogério Manoel Lemes de Campos  
Dra. Ana Cecília Poloni Rybka

Florianópolis-SC  
2015

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

Coelho, Marcelo Iran de Souza

Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Extratos da Casca do Umbu (*Spondias Tuberosa Arruda*) Obtidos por Diferentes Técnicas / Marcelo Iran de Souza Coelho; orientador; Haiko Hense, coorientador; Rogério Manoel Lemes de Campos, coorientadora; Ana Celia Poloni Rybka – Florianópolis, SC, 2015

165 p.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Inclui referência

1. Engenharia de Alimentos. 2. extrações à baixa pressão. 3. extração supercrítica. 4. extração assistida por enzimas. 5. Biocompostos. I. Hense, Haiko. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. III. Título.

**Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Extratos da Casca do Umbu (*Spondias Tuberosa Arruda*) Obtidos por Diferentes Técnicas**

Marcelo Iran de Souza Coelho

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

---

Prof. Dr Haiko Hense  
Orientador

---

Prof. Dr. Rogério Manoel Lemes de Campos  
Coorientador

---

Prof. Dr. Marco Di Luccio  
Coordenador

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Haiko Hense

---

Prof<sup>ta</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosemary Roffmann Ribani

---

Prof<sup>ta</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aziza Kamal Genera

---

Prof<sup>ta</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patricia Benelli

---

Prof<sup>ta</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina Salvador Ferreira

---

Dr<sup>a</sup>. Natália Mezzomo

Florianópolis, 13 de março de 2015.



## DEDICATÓRIA

Dedico de maneira muito especial, este pequeno esforço, que significa um novo triunfo em minha vida, principalmente:

A DEUS, por dar-me a vida e sabedoria, permitindo-me chegar a este momento tão especial de minha existência.

À minha querida e amada esposa Maria Cláudia pelo amor e paciência em todos os momentos.

Ao meu filho João Marcelo por compreender a minha ausência em alguns momentos.

Aos meus pais Florêncio e Eluzinete por terem me ensinado que o único caminho de se vencer na vida é o estudo.

Às minhas irmãs Marcelle e Leilyane pelo valioso apoio.





## AGRADECIMENTOS

A todos que fazem parte da Universidade Federal de Santa Catarina, em especial ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano *Campus* Petrolina Zona Rural, pela concessão de afastamento durante realização dos experimentos.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE, pela concessão de bolsa e aporte financeiro para a execução deste trabalho.

À EMBRAPA Semiárido, pela disponibilização de equipamento e técnico para realização de análises.

Ao Professor Haiko Hense, pela orientação, confiança, profissionalismo, apoio e amizade.

Ao Professor Rogério Campos e a Dra. Ana Cecília Rybka, pelas coorientações.

Ao professor Fábio Freire, pela ajuda na aquisição da matéria-prima.

À minha orientada Alessandra Sá, pelo apoio nas análises iniciais.

A todos que fazem parte do Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica - LATESC, pelo acolhimento, apoio e incentivo à pesquisa.

Às Professoras Luciana Cavalcanti e Edna Amante, pela atenção dada em todas as vezes que necessitei.

Ao Professor Pedro Barreto, pela disponibilização de equipamento e apoio com as análises.

Aos Professores Rosemary Ribani, Aziza Genena, Ana Carolina Costa, Débora de Oliveira, Marcelo Lanza, Sandra Ferreira, Natália Mezzomo e Patrícia Benelli pelas valiosas sugestões durante a qualificação e defesa da Tese.

Aos professores e amigos Marcos Lima, Marcelo Olinda e Páulia Reis pela convivência, sugestões e colaborações.

Enfim, a todos que direta e indiretamente ajudaram-me neste trabalho.



## RESUMO

O umbu (*Spondias tuberosa* Arruda), fruto endêmico do semiárido nordestino, adaptado a sobreviver e a produzir sob condições de estresse hídrico, é uma espécie frutífera de grande importância econômica, social e ecológica para esta região. Explorado normalmente de forma extrativista, os frutos são comercializados para consumo *in natura* ou industrialização e como consequência deste processamento, surgem os resíduos agroindustriais e a necessidade de seu aproveitamento, uma vez que quantidade considerável de biocompostos pode estar presente nesses resíduos. Portanto, o objetivo deste estudo consistiu em avaliar a composição e atividade antioxidante de extratos de cascas de umbu desidratadas, obtidos por extrações à baixa pressão sem uso de enzimas, extração supercrítica e extração assistida por enzimas. Os umbus foram adquiridos nos municípios de Petrolina-PE, Moreilândia-PE e Jaguarari-BA em estágio de maturação variando de meio-maduro a maduro. Depois de selecionados foram despulpados e as cascas provenientes deste procedimento foram separadas das sementes para serem submetidas à secagem e moagem. A farinha obtida foi caracterizada físico-quimicamente, separada e classificada granulometricamente. Submetida aos processos de extração à baixa pressão sem uso de enzimas, por meio dos métodos Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração utilizando os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila, etanol e água destilada e também por meio do método hidrodestilação. Submetida à extração supercrítica em diferentes condições de pressão (200, 300 e 400 bar) e temperatura (35, 45 e 55 °C) empregando o solvente dióxido de carbono e também à extração assistida por enzimas utilizando o preparado enzimático Endozym<sup>®</sup> Pectofruit PR em diferentes concentrações (2, 4, 6 mL.100 kg<sup>-1</sup>) e tempos de incubação (30, 60 e 90 minutos). A qualidade dos extratos foi avaliada em termos de teor de fenólicos totais e atividade antioxidante. Os maiores rendimentos foram obtidos por meio da extração assistida por enzimas, a extração assistida por ultrassom com hexano proporcionou extratos com maior teor de fenólicos totais e maior atividade antioxidante medida pelos métodos de captura radical DPPH e de inibição do radical ABTS. A maior atividade antioxidante medida pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico foi obtida com a extração supercrítica (400 bar/55 °C). A análise por cromatografia líquida de alta eficiência permitiu a identificação, pela

primeira vez nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas de 17 compostos fenólicos, de 8 compostos fenólicos nos extratos obtidos em extração supercrítica e 8 compostos fenólicos nos extratos obtidos em extração assistida por enzimas.

**Palavras-chave:** extrações à baixa pressão, extração supercrítica, extração assistida por enzimas, biocompostos.

## ABSTRACT

The umbu (*Spondias tuberosa* Arruda), endemic fruit of the semi-arid northeast, adapted to survive and produce under conditions of water stress, is a fruit species of great economic, social and ecological importance in this region. Usually explored in an extractive way, the fruits are marketed for fresh consumption or industrialization and as a result of this processing, agro-industrial waste and the need for its use arise, since considerable amount of biocompounds may be present. Therefore, the aim of this study was to assess the composition and antioxidant activity of extracts of barks of dried umbus obtained by the low-pressure extraction without the use of enzymes, supercritical extraction and assisted by enzymes extraction. The umbus were purchased in the cities of Petrolina-PE, Moreilândia-PE and Jaguarari-BA in maturation stage ranging from half-ripe to ripe. After selected were pulped and peels from this procedure were separated from seeds to be submitted to drying and grinding. The flour obtained was characterized physico-chemically separate and granulometrically classified. Subjected to extraction processes at low pressure through the Soxhlet method, using ultrasound and macerating the solvents hexane, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol and distilled water, and hydrodistillation method. Was subjected to supercritical extraction under different conditions of pressure (200, 300 and 400 bar) and temperature (35, 45 and 55 °C) using the solvent carbon dioxide and also to assisted by enzymes extraction using enzymatic preparation Endozym® Pectofruit PR in different doses (2, 4, 6 mL.100 kg<sup>-1</sup>) and incubation times (30, 60 and 90 minutes). The quality of the extracts was evaluated in terms of total phenolic content and antioxidant capacity. The highest yields and efficiency ratios were obtained by assisted by enzymes extraction, assisted by ultrasound extraction with hexane gave extracts with higher total phenolic content and antioxidant activity measured by the methods of capturing radical DPPH and ABTS radical inhibition. The highest antioxidant activity as measured by the method of discoloration  $\beta$ -carotene/linoleic acid system was obtained by supercritical fluid extraction (400 bar/55 °C). Analysis by high performance liquid chromatography allowed the identification, for the first time in umbus extracts the low pressure without the use of enzymes of 17 phenolic compounds, phenolic compounds 8 in extracts obtained from supercritical extraction and 8 phenolic compounds in the extracts

obtained from assisted by enzymes extraction.

**Keywords:** low-pressure extraction, supercritical extraction, assisted by enzymes extraction, biocompounds.

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AA = Atividade antioxidante  
ABS = Absorbância  
ABTS = Radical cátion 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)  
Ace = Acetato de etila  
AcM = Acetato de etila em extração por maceração  
ACP = Análise de componentes principais  
AcS = Acetato de etila em extração Soxhlet  
AcU = Acetato de etila em extração assistida por ultrassom  
AgM = Água destilada em extração por maceração  
AgS = Água destilada em extração Soxhlet  
AgU = Água destilada em extração assistida por ultrassom  
ANOVA = Análise de variância univariada  
ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
AOAC = Association of Official Analytical Chemists  
ASTM = American Society for Testing and Materials  
Aw = Atividade de água  
BETA = Atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico  
BHT = Butil-hidroxitolueno  
CER = Constant extraction rate period  
CO<sub>2</sub> = Dióxido de carbono  
DAD = Detector de arranjos de diodos  
DC = Diffusion controlled rate period  
DF = Detector de fluorescência  
Dic = Diclorometano  
DM = Diclorometano em extração por maceração  
DPPH = 1,1-difenil-2-picrilidrazina  
DS = Diclorometano em extração Soxhlet  
DU = Diclorometano em extração assistida por ultrassom  
E0T30 = Sem enzima por 30 minutos  
E0T60 = Sem enzima por 60 minutos  
E0T90 = Sem enzima por 90 minutos  
E2T30 = Enzima concentração 2 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 30 minutos  
E2T60 = Enzima concentração 2 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 60 minutos  
E2T90 = Enzima concentração 2 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 90 minutos  
E4T30 = Enzima concentração 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 30 minutos  
E4T60 = Enzima concentração 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 60 minutos  
E4T90 = Enzima concentração 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 90 minutos  
E6T30 = Enzima concentração 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 30 minutos  
E6T60 = Enzima concentração 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 60 minutos  
E6T90 = Enzima concentração 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 90 minutos

EC<sub>50</sub> = Concentração efetiva onde o composto apresenta 50 % da sua atividade máxima

EM = Etanol em extração por maceração

EMBRAPA = Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias

ENGEBIO = Laboratório de Engenharia Bioquímica

Epicat. = Epicatequina

ES = Etanol em extração Soxhlet

ESC = Extração supercrítica

Eta = Etanol

EU = Etanol em extração assistida por ultrassom

FCUE = Farinha de cascas de umbu da estufa

FCUS = Farinha de cascas de umbu do secador

FER = Falling extraction rate period

GAE = Equivalentes de ácido gálico

GRAS = Generally recognized as safe

Hex = Hexano

HID = Hidrodestilação

HM = Hexano em extração por maceração

HPLC = Cromatografia gasosa de alta eficiência

HS = Hexano em extração Soxhlet

HU = Hexano em extração assistida por ultrassom

IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IF SERTÃO-PE = Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano

IP = Índices de polaridades

KHz = Kiloherz

LATESC = Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica

LOD = Limites de detecção

LOQ = Limites quantificação

min = Minutos

mmHg = Milímetro de mercúrio

ND = Não detectado

NEPA = Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação

P.A. = Pro Analyse

PC1 = Componente Principal 1

PC2 = Componente Principal 2

pH = Potencial hidrogeniônico

Prob. = Probabilidade

Quer. = Quercetina

RDC =

REND = Rendimentos

rpm = Rotação por minuto

SPSS = Statistical Package for Social Sciences



SST = Sólidos Solúveis Totais

T35P200 = 35 °C em 200 bar

T35P300 = 35 °C em 300 bar

T35P400 = 35 °C em 400 bar

T45P200 = 45 °C em 200 bar

T45P300 = 45 °C em 300 bar

T45P400 = 45 °C em 400 bar

T55P200 = 55 °C em 200 bar

T55P300 = 55 °C em 300 bar

T55P400 = 55 °C em 400 bar

TEAC = Atividade antioxidante equivalente ao Trolox

TFT = Teor de compostos fenólicos totais

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

TUHH = Technische Universität Hamburg-Harburg

UFSC = Universidade Federal de Santa Catarina

UV = Ultravioleta

$X_0$  = Rendimento global

$\rho_{CO_2}$  = Massa específica do  $CO_2$



## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Umbuzeiro adulto enfolhado.....	35
Figura 2: Umbu ( <i>Spondias tuberosa</i> Arruda).....	37
Figura 3: Resíduos de umbu (cascas e sementes).....	38
Figura 4: Estrutura básica dos flavonoides.....	42
Figura 5: Refratômetro analógico portátil (a); despoldadeira (b).....	54
Figura 6: Secagem em secador de bandejas (a); secagem em estufa (b), ambos com circulação de ar forçada e a 50 °C.....	55
Figura 7: Cascas secas de umbus para serem moídas no micro moinho (a); cascas moídas no micro moinho (farinha obtida) (b).....	55
Figura 8: Sistema de extração direta em Soxhlet.....	58
Figura 9: Sistema de extração ultrassônica.....	59
Figura 10: Sistema de Clewenger na hidrodestilação.....	61
Figura 11: Sistema de tratamento de extratos e recuperação de solventes.....	61
Figura 12: Equipamento de extração supercrítica do LATESC.....	63
Figura 13: Equipamento de extração supercrítica do Laboratório de Reologia e Biopolímeros.....	65
Figura 14: Shaker orbital com amostras em reação a 55 °C.....	65
Figura 15: Média de perda de umidade das cascas de umbu em função do tempo de secagem entre os equipamentos utilizados.....	74
Figura 16: Distribuição do tamanho de partículas da farinha.....	78
Figura 17: Curva de extração com fluido supercrítico de farinha de cascas de umbu a 200 bar, 45 °C e 1,0 ± 0,1 kg/h de CO <sub>2</sub> .....	81
Figura 18: “Biplot” da separação dos tratamentos de extrações à baixa pressão sem uso de enzimas em função das variáveis de rendimento, compostos fenólicos e atividades antioxidantes, nas componentes principais.....	104
Figura 19: “Biplot” da separação dos tratamentos de extrações supercríticas em função das variáveis de rendimento, compostos fenólicos e atividades antioxidantes, nas componentes principais....	106
Figura 20: “Biplot” da separação dos tratamentos de extrações assistidas por enzimas em função das variáveis de rendimento, compostos fenólicos e atividades antioxidantes, nas componentes principais.....	108
Figura 21: Curva analítica de ácido gálico utilizada na determinação do teor de fenólicos totais, a 765 nm.....	163
Figura 22: Curva analítica de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu....	165



## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Índice de polaridade de solventes utilizados nos processos de extrações à baixa pressão sem uso de enzimas.....	57
Tabela 2: Caracterização físico-química das farinhas de cascas de umbu obtidas por meio das secagens em secador e em estufa.....	75
Tabela 3: Análise granulométrica da farinha de cascas de umbu.....	78
Tabela 4: Rendimento global de extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extrações à baixa pressão sem uso de enzimas com diferentes solventes.....	79
Tabela 5: Rendimento global de extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica nas condições testadas.....	82
Tabela 6: Rendimento global de extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas nas condições testadas.....	83
Tabela 7: Teor de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE), para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extrações à baixa pressão sem uso de enzimas com diferentes solventes.....	85
Tabela 8: Teor de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE), para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica.....	87
Tabela 9: Teor de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE), para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.....	88
Tabela 10: Atividade antioxidante (% AA) dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, determinada pelo método DPPH.....	89
Tabela 11: Atividade antioxidante (% AA) dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, determinada pelo método DPPH.....	91
Tabela 12: Atividade antioxidante (% AA) dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas, determinada pelo método DPPH.....	93
Tabela 13: Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, determinada pelo método ABTS.....	95
Tabela 14: Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, determinada pelo método ABTS.....	96
Tabela 15: Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas	

de umbu obtidos em extração assistida por enzimas, determinada pelo método ABTS.....	97
Tabela 16: Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, determinada pelo método de descoloração do $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.....	99
Tabela 17: Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, determinada pelo método de descoloração do $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.....	100
Tabela 18: Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos com extração assistida por enzimas, determinada pelo método de descoloração do $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.....	101
Tabela 19: Correlações (loadings) dos rendimentos, fenólicos e atividades antioxidantes das extrações à baixa pressão sem uso de enzimas nas componentes principais 1 e 2.....	103
Tabela 20: Correlações (loadings) dos rendimentos, fenólicos e atividades antioxidantes das extrações supercríticas nas componentes principais 1 e 2.....	105
Tabela 21: Correlações (loadings) dos rendimentos, fenólicos e atividades antioxidantes das extrações assistidas por enzimas nas componentes principais 1 e 2.....	107
Tabela 22: Valores dos flavanóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.....	110
Tabela 23: Valores dos ácidos fenólicos em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.....	112
Tabela 24: Valores dos flavonóis e <i>trans</i> -resveratrol em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.....	114
Tabela 25: Valores dos flavanóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica.....	118
Tabela 26: Valores dos ácidos fenólicos e <i>trans</i> -resveratrol em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica.....	118
Tabela 27: Valores dos flavanóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.....	120
Tabela 28: Valores dos ácidos fenólicos em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.....	121
Tabela 29: Valores dos flavonóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.....	123
Tabela 30: Correlação de Pearson entre os compostos fenólicos quantificados e a atividade antioxidante nas extrações à baixa	

pressão sem uso de enzimas.....	128
Tabela 31: Correlação de Pearson entre os compostos fenólicos quantificados e a atividade antioxidante nas extrações supercríticas	130
Tabela 32: Correlação de Pearson entre os compostos fenólicos quantificados e a atividade antioxidante nas extrações assistidas por enzimas.....	131
Tabela 33: Tempos de extração, massas de extrato, massas de extrato acumuladas e rendimentos ( $X_0$ ) do experimento cinético a 200 bar, 45 °C e $1,0 \pm 0,1$ kg CO <sub>2</sub> /h.....	161





## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>29</b>
1.1. Objetivos.....	33
1.1.1. Objetivo geral.....	33
1.1.2. Objetivos específicos.....	33
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>35</b>
2.1. O umbuzeiro.....	35
2.2. O umbu.....	36
2.3. Geração e aproveitamento de resíduos.....	37
2.4. Potencial antioxidante.....	39
2.5. Compostos fenólicos.....	41
2.6. Secagem das cascas.....	43
2.7. Métodos de extração.....	44
2.7.1. Extração Soxhlet .....	46
2.7.2. Extração assistida por ultrassom .....	47
2.7.3. Extração por maceração.....	48
2.7.4. Hidrodestilação .....	48
2.7.5. Extração supercrítica.....	49
2.7.6. Extração assistida por enzimas .....	50
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>
3.1. Etapas e locais de execução do experimento.....	53
3.2. Aquisição e seleção dos frutos .....	53
3.3. Preparo da matéria-prima.....	54
3.4. Caracterização físico-química das farinhas.....	56
3.5. Granulometria da farinha.....	56
3.6. Técnicas de extração.....	57
3.6.1. Soxhlet.....	57
3.6.2. Assistida por ultrassom.....	59
3.6.3. Maceração.....	60
3.6.4. Hidrodestilação.....	60
3.6.5. Tratamento dos extratos e recuperação dos solventes.....	61
3.6.6. Extração Supercrítica.....	62
3.6.7. Extração assistida por enzimas.....	65

3.6.8. Rendimento em extratos.....	66
3.7. Caracterização dos extratos obtidos.....	66
3.7.1. Teor de fenólicos totais dos extratos.....	66
3.7.2. Determinação da atividade antioxidante dos extratos.....	67
3.7.2.1. Método de captura do radical DPPH.....	68
3.7.2.2. Método de inibição do radical ABTS.....	68
3.7.2.3. Método de descoloração do sistema $\beta$ - caroteno/ácido linoleico.....	70
3.7.3. Caracterização dos compostos fenólicos dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	71
3.8. Análise estatística.....	72
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>73</b>
4.1. Determinação do teor de sólidos solúveis dos frutos de umbu.....	73
4.2. Secagem das cascas do umbu e avaliação dos equipamentos utilizados.....	74
4.3. Caracterização físico-química das farinhas.....	75
4.4. Análise granulométrica.....	78
4.5. Determinação do rendimento global de extrato ( $X_0$ ).....	79
4.5.1. Extratos obtidos à baixa pressão.....	79
4.5.2. Extratos obtidos em extração supercrítica.....	80
4.5.3. Extratos obtidos em extração assistida por enzimas.....	82
4.6. Compostos fenólicos totais.....	84
4.7. Determinação da atividade antioxidante por meio do método de captura do radical DPPH.....	89
4.8. Determinação da atividade antioxidante por meio do método de inibição do radical ABTS.....	94
4.9. Determinação da atividade antioxidante por meio do método de descoloração do sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.....	98
4.10. Análise de componentes principais (ACP) do tipo “Biplot”.....	102
4.11. Compostos fenólicos dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	109
4.12. Correlação de Pearson entre compostos identificados	

e atividade antioxidante.....	127
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>133</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>135</b>
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>137</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>139</b>
<b>APÊNDICE A: DADOS EXPERIMENTAIS DA CURVA DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA.....</b>	<b>161</b>
<b>APÊNDICE B: CURVA ANALÍTICA DE ÁCIDO GÁLICO</b>	<b>163</b>
<b>APÊNDICE C: CURVA ANALÍTICA DE TROLOX.....</b>	<b>165</b>



## 1. INTRODUÇÃO

O umbuzeiro é uma árvore xerófita endêmica do semiárido brasileiro, segundo Miller e Schaal (2005), é uma *Anacardiaceae*, do gênero *Spondias*, que é formado por aproximadamente 17 espécies, das quais sete distribuídas na América Tropical e dez na Ásia Tropical.

Planta típica do sertão e do agreste tem sua origem no Brasil, precisamente na região semiárida nordestina, espécie nativa das caatingas do Nordeste brasileiro adaptada a sobreviver e produzir sob condição de estresse hídrico. Apesar de ter sua distribuição dispersa, é uma espécie frutífera de grande importância econômica, social e ecológica para o semiárido nordestino (ARAÚJO; SANTOS, 2004).

De acordo com dados do IBGE (2014), foram extraídas 7.561 toneladas de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) no país em 2013, gerando uma renda de R\$ 8.078.000,00. Essa atividade extrativista acontece em ordem de importância nos estados da Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Piauí, Paraíba, Minas Gerais, Alagoas, Ceará e Amazonas. Os frutos colhidos são explorados comercialmente, para o consumo *in natura* ou industrialização, como elaboração de suco, polpa congelada, sorvete, geleia e/ou doces.

Como consequência deste processamento, cerca de 40 % de resíduos agroindustriais são gerados, compostos de restos de polpa, cascas, caroços e sementes. Considerando isso, surge a necessidade de estudos visando o aproveitamento das cascas e sementes de umbu descartadas sem nenhuma aplicação tecnológica pelas pequenas indústrias da região, uma vez que as maiores quantidades de vitaminas e sais minerais concentram-se nos resíduos de processamento de frutas (PELIZER; PONTIRRI; MORAES, 2007).

Compostos antioxidantes naturais estão presentes em sementes, frutas, folhas e raízes. Ajila, Bhat e Prasada Rao (2007) apresentaram que as cascas e as sementes de certos frutos exibem teor relevante de fitoquímicos bioativos cuja atividade antioxidante é mais elevada do que a polpa.

Pesquisas têm proposto o isolamento de compostos fenólicos de subprodutos agroindustriais visando seu reaproveitamento como antioxidante e, conseqüentemente, a diminuição do impacto ambiental resultante do processamento industrial (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; ALMEIDA et al., 2011; CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; OMENA et al., 2012).

Segundo Broinizi et al. (2007), as frutas e outros vegetais contêm substâncias antioxidantes distintas, cujas atividades têm sido bem comprovadas nos últimos anos. A presença de compostos fenólicos, tais como flavonóides, ácidos fenólicos, antocianinas, além dos já conhecidos como das vitaminas C, E e A, contribuem para os efeitos benéficos destes alimentos.

O umbuzeiro é uma das espécies frutíferas com potencial antioxidante. Mattietto, Lopes e Menezes (2007) e Ushikubo, Watanabe e Viotto (2006) relataram que os frutos do umbuzeiro possuem de  $5,4 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $23,83 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de vitamina C, além de carotenóides e compostos fenólicos. Estes fitoquímicos, com reconhecida propriedade antioxidante, atuam retardando a velocidade da reação de oxidação, por meio de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais, e estão relacionadas à prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (SHUI; LEONG, 2005).

Popularmente têm sido adicionada farinha de cascas de umbu como provável fonte de antioxidante natural em formulações de alimentos como linguças, hambúrgueres e espetinhos com intuito de substituir ou reduzir o uso dos antioxidantes sintéticos.

Melo e Andrade (2010) pesquisaram compostos bioativos e o potencial antioxidante de frutos do umbuzeiro e concluíram que as cascas desidratadas (farinha) do fruto, especialmente no estágio de maturação maduro, podem ser vistas como um material promissor para a extração destes compostos, com possibilidade de aplicação em alimentos como antioxidante natural.

Métodos tradicionais de extração, incluindo a extração com solventes orgânicos e a hidrodestilação são bastante utilizados para a obtenção de extratos de diversas matrizes vegetais. Essas técnicas geralmente envolvem altas temperaturas de processo, o que pode ocasionar a destruição de compostos termossensíveis e, além disso, os resíduos dos solventes orgânicos utilizados podem ser prejudiciais à saúde (BE-JEN; YEN-HUI; ZER-RAN, 2004).

A extração supercrítica (ESC), uma técnica de extração que vem se desenvolvendo continuamente nas últimas décadas, emprega gases pressurizados como solventes e diferencia-se das outras técnicas pela produção de extratos isentos de solvente e sem degradação térmica, além de permitir o fácil controle da seletividade do processo, minimiza danos ao meio ambiente e prima pela qualidade do produto (KHAJEH et al., 2004).

Outra técnica alternativa consistente aos processos convencionais é a aplicação de enzimas nas extrações, por tratar-se de um processo que consome menor energia, melhora a qualidade de vários produtos e causa impacto ambiental mínimo. Para realizar a extração de compostos que se encontram nos vacúolos intracelulares, há a necessidade do rompimento das paredes e membranas celulares. Os tratamentos mecânico e térmico causam a ruptura das estruturas celulares, porém, não são suficientes, já que partes dos compostos permanecem na célula, sem serem extraídos. Diversos estudos destacam a extração assistida por enzimas, visando uma maior extração de materiais corantes e compostos químicos em geral (ALMEIDA et al., 2005; NOGUEIRA et al., 2005; UENOJO; PASTORE, 2007).

A literatura relata bastante informação sobre a atividade antioxidante das espécies frutíferas de clima temperado e tropical cultivadas de forma regular, porém é necessário que sejam desenvolvidas pesquisas com as espécies frutíferas nativas e exóticas do Brasil, exploradas normalmente de forma extrativista como o umbuzeiro.

As extrações e identificações dos compostos presentes nos extratos das cascas de umbu são uma inovação na área da pesquisa no Brasil, além da importância da redução de resíduos orgânicos e do estudo de técnicas alternativas com baixo impacto ambiental, como a extração supercrítica e a extração assistida por enzimas motivaram o desenvolvimento deste trabalho.

A identificação dos compostos presentes nos extratos das cascas de umbu é inédita e servirá de embasamento para futuros investimentos nesta matéria-prima tão comum e adaptada ao sertão nordestino, gerando conhecimento sobre este resíduo, uma vez que é escasso ou mesmo ausente dados na literatura.





## 1.1. OBJETIVOS

### 1.1.1. Objetivo geral

Avaliar a composição e atividade antioxidante de extratos de cascas de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) desidratadas, obtidos por diferentes métodos de extração.

### 1.1.2. Objetivos específicos

- a) Caracterizar a matéria-prima quanto ao teor de sólidos solúveis totais;
- b) Estudar o processo de secagem de cascas de umbu por meio do uso de secador e estufa de secagem;
- c) Obter e caracterizar física e quimicamente a farinha das cascas de umbu desidratadas;
- d) Obter extratos e avaliar sistema extrativo à baixa pressão sem uso de enzimas por meio das técnicas Soxhlet, extração assistida por ultrassom e maceração com uso dos solventes hexano, acetato de etila, diclorometano, etanol e água;
- e) Obter extratos e avaliar sistema extrativo por tecnologia supercrítica com diferentes pressões e temperaturas;
- f) Obter extratos e avaliar sistema extrativo por uso de enzimas com diferentes concentrações e tempos de reação;
- g) Determinar o rendimento em extrato em função dos métodos empregados;
- h) Determinar o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante dos extratos obtidos pelas técnicas de captura do radical DPPH, inibição do radical ABTS e descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico;
- i) Identificar e quantificar os principais compostos fenólicos nos extratos, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência;
- j) Aplicar a técnica de análise de variância univariada (ANOVA), a análise multivariada denominada Análise de Componentes Principais (ACP) e a análise de correlação de Pearson aos tratamentos de extrações e às variáveis.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. O umbuzeiro

Dentre inúmeras xerófilas existentes no semiárido nordestino, o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) (Figura 1) reveste-se de grande importância tanto socioeconômica, como ecológica. É naturalmente encontrado nas caatingas elevadas da Serra da Borborema, Serras do Seridó Norte-Rio-Grandense, na região Agreste do Piauí, nas caatingas de Pernambuco, Alagoas e Bahia e no norte de Minas Gerais (CARVALHO, 2006).

**Figura 1:** Umbuzeiro adulto enfolhado. Fonte: Próprio autor.



O gênero *Spondias*, conforme Lira Júnior et al. (2005), pertence à família *Anacardiaceae* e no Nordeste brasileiro, destacam-se as espécies: *Spondias mombin* L. (cajazeira), *Spondias purpurea* L. (cirigueleira), *Spondias cytherea* Sonn. (cajaraneira), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro) e *Spondias spp.* (umbu-cajazeira e umbugueleira), todas árvores frutíferas tropicais nativas e exóticas, largamente exploradas por meio do extrativismo.

Entre as *Spondias*, o umbuzeiro destaca-se por possuir diversos mecanismos contra a escassez de água, como a formação de estruturas nas raízes denominadas de xilopódios (batatas) que acumulam água, e à queda de suas folhas adaptando-se perfeitamente a períodos prolongados de seca (DUQUE, 2004).

É uma árvore de pequeno porte, copa em forma de guarda-chuva, esparramada, tronco curto, galhos retorcidos e muito ramificados, frondosa para as condições do sertão, alcançando quando adulta, a uma altura média em torno de seis metros, com ramos laterais em semicírculo, e uma circunferência de até trinta metros de diâmetro (ARAÚJO; SANTOS, 2004).

De acordo Lima Filho (2011), o umbuzeiro possui apenas um período de floração e frutificação por ano. A frutificação é abundante, iniciando-se aproximadamente 25 dias após a floração e a maturação dos frutos, em torno de 120 dias. De uma única planta pode-se extrair aproximadamente 300 kg de umbu por safra e o período de frutificação é sazonal curto. Dependendo dos fatores climáticos e ambientais, a obtenção de frutos pode ocorrer em períodos diferentes.

## 2.2. O umbu

O umbu, considerado um produto de extração vegetal não cultivado, coletado em árvores que crescem espontaneamente, é uma fruta do tipo drupa elipsoidal, têm forma arredondada a ovalada, liso ou levemente piloso, com quatro a cinco pequenas protuberâncias na porção distal, com diâmetro variando de dois a quatro centímetros, massa entre 10 e 20 g, sendo constituído por epicarpo (casca) 22 %, muito ou pouco espesso, de cor amarelo-esverdeado; mesocarpo (polpa) 68 %, branco-esverdeado variando de fino a grosso, mole e succulento, quase aquoso quando maduro e sabor agridoce; e semente (caroço) 10 % (FOLEGATTI et al., 2003).

O umbu (Figura 2) tem ganhado espaço no mercado nacional e internacional, pois, além de apresentar sabor agradável e aroma peculiar, é uma boa fonte de minerais e seu consumo pode contribuir substancialmente na dieta, de acordo com a Tabela Brasileira de Alimentos do NEPA (2011). O fruto cru apresenta 89,3 % de umidade, 0,8 g.100g<sup>-1</sup> de proteína, 9,4 g.100g<sup>-1</sup> de carboidrato, 2,0 g.100g<sup>-1</sup> de fibra alimentar e 0,5 g.100g<sup>-1</sup> de cinzas.

Almeida et al. (2009) avaliaram umbu (polpa e casca) quanto aos macro e microminerais e encontraram: 2,07 mg.100g<sup>-1</sup> de sódio (Na), 205,17 mg.100g<sup>-1</sup> de potássio (K), 30,06 mg.100g<sup>-1</sup> de cálcio (Ca), 10,77 mg.100g<sup>-1</sup> de magnésio (Mg), 29,36 mg.100g<sup>-1</sup> de fósforo (P), 0,41 mg.100g<sup>-1</sup> de ferro (Fe), 0,07 mg.100g<sup>-1</sup> de cobre (Cu), 0,14 mg.100g<sup>-1</sup> de zinco (Zn), 0,11 mg.100g<sup>-1</sup> de selênio (Se), 8,54 mg.100g<sup>-1</sup> de cobalto

(Co) e  $12,07 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de níquel (Ni), e portanto, pode ser considerada fonte valiosa de minerais.

**Figura 2:** Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). Fonte: Próprio autor.



### 2.3. Geração e aproveitamento de resíduos

No Brasil são encontradas várias formas de processamento industrial de frutas, tais como o umbu, sendo as principais, a polpa ou purê, os doces em pasta e as compotas. Destacam-se, em franco crescimento os néctares e sucos prontos para beber (PALLET et al., 2005; MONTEIRO, 2006).

Conforme Leal, Souza e Gomes (2006), as possibilidades de exploração, de forma sustentável, dos recursos naturais como produção de polpa, doces cristalizados, compotas, massas, sucos, licores, e outras iguarias são viáveis. Dantas Júnior et al. (2008) relatou que os frutos de umbu colhidos são consumidos *in natura* ou processados para a produção de sucos, polpas, geleias ou sorvetes, já que são de elevada perecibilidade.

Com estas possibilidades, pequenas agroindústrias vêm sendo instaladas por toda a região do Vale do São Francisco, gerando ao mesmo tempo um incremento na produção de resíduos agroindustriais. Apesar da preocupação com o meio ambiente, desenvolvida pela sociedade moderna, o destino para o resíduo de muitas frutas de acordo com Vieira et al. (2009) é ainda inadequado, devido à grande quantidade

de resíduos (cascas e caroços) produzidos por tonelada de produto processado. Dessa forma, ressaltaram a importância do desenvolvimento de pesquisas com vistas ao aproveitamento dos mesmos.

O Brasil, por ser um país de grande atividade agrícola produz resíduos agroindustriais que geram impactos ambientais e, com isso, a busca de alternativas para a utilização da matéria orgânica gerada cresce em vários centros de pesquisa. Produtores e indústrias enfrentam o problema de descarte da biomassa residual que, embora seja biodegradável, necessita de um tempo mínimo para ser mineralizada, constituindo-se numa fonte de poluentes ambientais. De acordo com Cataneo et al. (2008), esses resíduos agroindustriais contêm várias substâncias biologicamente ativas que são desperdiçadas, sendo a maioria ricos em compostos polifenólicos. Assim, a utilização eficiente desses resíduos é importante, uma vez que pode agregar valor aos subprodutos agroindustriais, prevenir problemas de poluição ambiental e gerar empregos (MALACRIDA et al., 2007).

Os resíduos de umbu (Figura 3) ainda não apresentam aplicabilidade em alimentos e não estão devidamente caracterizados, no que se refere aos parâmetros químicos e, em especial, ao seu potencial antioxidante, sendo importante o seu estudo por ser uma fruta típica da região nordeste do Brasil, onde o setor agroindustrial tem crescido nos últimos anos (BRAINER et al., 2008).

**Figura 3:** Resíduos de umbu (cascas e sementes). Fonte: Próprio autor.



## 2.4. Potencial antioxidante

Segundo Lima et al. (2004), as evidências quanto à importância dos subprodutos de frutas e vegetais como fonte de fitoquímicos com atividade biológica sugerem a exploração de tal potencial como fonte de bioativos para a dieta humana.

A principal forma de obtenção pelo organismo de antioxidantes consiste na ingestão de compostos com esta atividade por meio da dieta. Os principais antioxidantes dietéticos são algumas vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides. Os antioxidantes agem interagindo com os radicais livres antes que estes possam reagir com as moléculas biológicas, evitando que ocorram as reações em cadeia ou prevenindo a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (RATNAM et al., 2006).

De maneira geral, antioxidante é qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada à do substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz (SHAMI; MOREIRA, 2004). Segundo Andreo e Jorge (2006), a origem das substâncias antioxidantes pode ser sintética ou natural.

Conforme Luzia e Jorge (2009) o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido alvo de questionamentos quanto à sua inocuidade. Devido a isso, pesquisas estão voltadas para a busca de compostos naturais que exibam esta propriedade funcional, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e diminuir o uso dos antioxidantes sintéticos.

Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: com atividade enzimática e não enzimáticos. No primeiro grupo estão os compostos capazes de inibir a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. No segundo grupo estão as moléculas que interagem com as espécies radiculares e são consumidas durante a reação. Neste grupo incluem-se os compostos fenólicos (MOREIRA; MANCINI FILHO, 2003; MARIOD et al., 2009).

Os antioxidantes podem ser classificados ainda, de acordo com seu mecanismo de ação como primários ou secundários. Os antioxidantes primários são, por exemplo, compostos fenólicos, que atuam interrompendo a cadeia da reação por meio da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis ou reagem com radicais livres, formando

o complexo lipídio-antioxidante que, por sua vez, pode reagir com outro radical livre (RAMALHO; JORGE, 2006).

Já os antioxidantes secundários retardam a reação de autoxidação por diferentes mecanismos, que incluem complexação com metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (LUZIA; JORGE, 2009).

De acordo com Dubost, Ou e Beelman (2007) os antioxidantes mais pesquisados são a vitamina E, vitamina C, carotenoides, e os compostos fenólicos.

Os antioxidantes dos frutos, entre os quais se incluem o ácido ascórbico, tocoferóis, carotenoides e compostos fenólicos, variam amplamente em seus conteúdos e perfis entre os diversos frutos e suas partes. Como resultado, a atividade antioxidante de um fruto difere consideravelmente de outro em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas) (MELO et al., 2008).

De acordo com Oliveira et al. (2009), a eficiência antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende tanto de sua estrutura quanto da sua concentração no alimento. Por sua vez, a concentração destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos. Os valores analíticos para a atividade antioxidante ainda são influenciados pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente e pela técnica de extração utilizada, bem como pelo binômio tempo-temperatura.

Em decorrência da grande diversidade química existente vários ensaios têm sido desenvolvidos para avaliação da atividade antioxidante de amostras. Estes ensaios diferem em relação ao mecanismo de reação, às espécies-alvo, às condições reacionais e na forma com os resultados são expressos. Contudo a diversidade de métodos para avaliar a atividade antioxidante, não existe um procedimento metodológico universal. Este fato impõe a necessidade de avaliar a atividade antioxidante por diferentes técnicas, com fundamentos e mecanismos de ação diferentes (OLIVEIRA et al., 2009).

Dentre os métodos utilizados para se estimar a atividade antioxidante estão o teste de redução do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil), que é baseado na capacidade do DPPH• reagir com doadores de hidrogênio (JAYAPRAKASHA et al., 2007); ABTS•+



(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), que consiste em se monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS produzido pela oxidação do ABTS•+, quando amostra contendo antioxidantes é adicionada (RE et al., 1999) e a autooxidação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, que atua como gerador de radicais livres, os quais interagirão com o  $\beta$ -caroteno ocasionando o decaimento da sua absorvância (MELO et al., 2006).

## 2.5. Compostos fenólicos

Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica, a lipoxigenase *in vitro* (SOUSA et al., 2007) e processos aterogênicos. Estes compostos exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas (como anti-alergênica, anti-arteriogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetiva e vasodilatadora), mas o principal efeito tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

D'Archivio et al. (2007) sugerem que estes compostos possam atuar por meio de outros mecanismos além do mecanismo antioxidante, como a modulação da atividade de diferentes enzimas como telomerase, lipoxigenase e cicloxigenase, interações com receptores e vias de transdução de sinais, regulação do ciclo celular, entre outras, essenciais para a manutenção da homeostase dos organismos vivos.

Os compostos fenólicos são um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina, originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução. São sintetizados em condições de estresse como, doenças, cortes, radiações UV, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004; GIADA; MANCINI FILHO, 2006).

Segundo Angelo e Jorge (2007) os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas no reino vegetal, em particular nos frutos e em outras partes dos vegetais.

Segundo Kuskoski et al. (2005) e Santos et al. (2008), os compostos fenólicos presentes nos vegetais são os principais responsáveis pela atividade antioxidante. A proteção atribuída aos antioxidantes é decorrente da sua ação redutora frente a espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que são moléculas formadas continuamente

durante os processos metabólicos ou são provenientes de fontes exógenas.

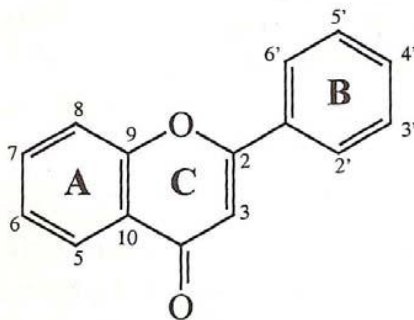
Os grupos de compostos fenólicos mais abundantes nos alimentos são os flavonoides, os ácidos fenólicos e as lignanas e, são considerados os antioxidantes fenólicos mais comuns de fontes naturais. Estas substâncias apresentam-se amplamente distribuídas no reino vegetal; sendo, desta maneira, encontradas em todas as frutas e outros vegetais (KARAKAYA, 2004; SPENCER et al., 2008).

Sua estrutura química contém pelo menos um anel aromático, o qual está unido a uma (ou mais) hidroxila(s) e, dependendo do número e da posição dessas hidroxilas na cadeia, esses compostos apresentam distintas propriedades de se complexar com os radicais livres, neutralizando-os, podendo ser divididos de acordo com o número de anéis fenólicos e com as estruturas às quais estão ligados (KARAKAYA, 2004; D'ARCHIVIO et al., 2007).

Essas substâncias agem como antioxidantes não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também por causa de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de ácidos graxos e de óleos (ALI et al., 2008).

O mais importante grupo dos compostos fenólicos são os flavonoides, sendo que a maioria destes possui 15 átomos de carbono em sua estrutura química, chamada de núcleo flavânico, ou 2-fenil-benzopirano formado por dois anéis benzênicos (A e B), ligados por um anel pirano heterocíclico (C) (Figura 4) (SIMÕES et al., 2010).

**Figura 4:** Estrutura básica dos flavonoides. Fonte: Simões et al. (2010).



Um estudo de Arabbi, Genovese e Lajolo (2004) concluiu que os alimentos comumente ingeridos pelos brasileiros que são as principais fontes de flavonoides são a laranja (70 %), a alface (9 %) e o tomate (2,5 %), e os principais flavonoides consumidos são suas formas glicosídicas e a quercetina.

## **2.6. Secagem das cascas**

A secagem (desidratação) consiste na retirada de parte da água livre presente no alimento permitindo até ser armazenado à temperatura ambiente. Essa tecnologia permite que não haja perdas expressivas de suas propriedades sensoriais e nutricionais e, de acordo com Costa (2008), pode ser feita tanto por secagem natural ao ar livre, na qual o produto é exposto ao sol; como também por meio de secagem artificial em secadores mecânicos ou estufas com circulação de ar forçada.

Na secagem por ar quente empregam-se secadores de bandejas que consistem basicamente de uma câmara com isolamento térmico, com sistemas de aquecimento e ventilação do ar circulante sobre e através das bandejas, que ficam em uma base fixa. O ar aquecido circula por meio de ventiladores e o sistema permite uma circulação de ar para conservação do calor (ARAGÃO; ASINA; GUEDES, 2007).

Também são utilizadas estufas com circulação forçada de ar equipadas com um termostato, o que garante a manutenção de uma temperatura constante durante o tempo desejado. A circulação forçada provoca a renovação constante do ar, removendo o ar saturado de umidade, permitindo que a secagem se processe mais facilmente. (SIMÕES et al., 2010).

Os parâmetros de controle podem variar de acordo com o processo, mas em geral a temperatura, tempo de secagem e a dimensão do alimento são influentes em qualquer processo de secagem. Esses parâmetros exercem efeitos sobre a taxa de secagem, teor de umidade final e encolhimento do produto, características estas relacionadas com a preservação e qualidade do alimento, conforme descrito por Lewicki e Pawlak (2003).

Abud e Narain (2009) realizaram desidratação de resíduos de umbu em secador de bandejas com circulação de ar forçada a 55 °C, temperatura caracterizada como ideal para a manutenção da atividade enzimática, enquanto Melo e Andrade (2010) efetuaram esse procedimento com resíduos (cascas) de umbus em estufa com circulação

forçada de ar a 40 °C até atingir umidade inferior a 10 %.

De acordo com Gava, Silva e Frias (2010) as vantagens do processo de secagem são várias, entre as quais uma melhor conservação do produto, redução de custos com embalagens e do peso, facilitando desta forma o armazenamento e o transporte.

Independente de como é realizado, o processo de secagem promove a diminuição de volume e de peso e favorece a trituração dos materiais. Neste sentido, a transformação das cascas de umbu em farinha pode ser um processo viável e propulsor, devido à praticidade de uso, redução da perecibilidade e do volume a ser transportado.

## **2.7. Métodos de extração**

O termo extração, segundo Simões et al. (2010), significa retirar, da forma mais seletiva e completa possível, as substâncias ou frações ativas contidas no vegetal, utilizando para isso, um líquido ou mistura de líquidos tecnologicamente apropriados e toxicologicamente seguros. O produto resultante dessa extração sólido-líquido é denominado solução extrativa.

A extração de acordo com Schinor et al. (2004) é o primeiro passo para a obtenção e purificação de constituintes químicos de espécies vegetais.

Existem vários procedimentos para a extração dos compostos antioxidantes em vegetais, conhecidos também como substâncias bioativas. Dentre esses, podem ser citados os tradicionais métodos de extração utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, éter e metanol); a extração supercrítica, que mediante mudanças na pressão e na temperatura, transforma o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em fluido supercrítico para a extração; e a extração assistida por enzimas em meio aquoso por maceração (LEAL et al., 2003; LANDBO; MEYER, 2004; REHMAN; HABIB; SHAH, 2004).

Sob o ponto de vista químico, a seleção da metodologia mais eficiente é bastante complexa para a extração desses compostos que, de acordo com Huber e Rodriguez-Amaya (2008), podem sofrer a influência de fatores intrínsecos, determinado por um sistema genético do vegetal, e mais fortemente pelos fatores extrínsecos, como estação do ano, incidência de radiação UV, clima, composição do solo, preparo e processamento do alimento, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração.

Etapas preliminares devem ser realizadas para facilitar a técnica de extração e conservar os compostos antioxidantes, que são sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor. Conforme Juntachote e Berghofer (2005), os vegetais normalmente são desidratados, liofilizados ou congelados, e ainda peneirados ou moídos antes do processo de extração. Assim, os substratos atingem maior superfície de contato com o solvente de extração e as enzimas lipoxigenase tornam-se inativas. Tais enzimas, naturalmente presentes em vegetais, são responsáveis pela rancidez oxidativa enzimática.

A extração com solventes orgânicos é comumente empregada para a separação dos compostos bioativos. O rendimento da extração e a determinação da atividade antioxidante dos extratos decorrem do tipo de solvente, em razão das diferenças nos potenciais antioxidantes e das polaridades dos compostos (AMENSOUR et al., 2010; TRABELSI et al., 2010).

Não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais, devido a diversos fatores. A natureza química desses compostos nos alimentos varia do simples ao altamente polarizado, há grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos alimentos. Alguns desses complexos, assim como alguns fenólicos com alta massa molar, são altamente insolúveis em água. Entretanto, os extratos sempre contêm mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido. Estágios adicionais podem ser necessários para purificar o isolado e remover substâncias fenólicas e não fenólicas indesejáveis (ANDREO; JORGE, 2006; SOUSA et al., 2011).

Segundo Li, Pordesimo e Weiss (2004), a solubilidade das substâncias se dá em função da afinidade existente entre as espécies do sistema. A escolha por um solvente adequado em combinação com uma agitação mecânica suficiente influencia o processo de transferência de massa e, conseqüentemente, a extração.

As tecnologias clássicas de extração de forma geral podem ser realizadas por meio de técnicas como a enfloragem (enflourage), a prensagem a frio, a maceração, extração assistida por ultrassom e a extração em Soxhlet, a destilação direta e a destilação por arraste a

vapor de água. Os principais solventes utilizados para a extração de óleos são o hexano, o benzeno, os alcoóis metílico, etílico e propílico, a acetona, o pentano e diversos solventes clorados. Após a extração, o solvente é removido por evaporação ou destilação à pressão reduzida, obtendo-se um extrato denso e resinoso (BISCAIA; FERREIRA, 2009).

Estas metodologias clássicas, conforme Herrero et al. (2010) e Maróstica Júnior, Leite e Dragano (2010), possuem desvantagens como tempos de operação longos, operações laboratoriais intensas, manuseio de grandes volumes de solventes perigosos e etapa seguinte de concentração do extrato, o que pode resultar em degradação térmica do composto alvo. Além disso, o solvente pode promover alterações químicas nas moléculas e ocasionar efeitos tóxicos nos consumidores.

### **2.7.1. Extração Soxhlet**

A extração Soxhlet é um método simples e conveniente de um número infinito de repetições do ciclo de extração com solvente até a exaustão completa do soluto na matéria-prima. O extrator Soxhlet é constituído por um corpo de vidro, em que é colocado no seu interior um cartucho contendo o sólido a ser extraído e na parte inferior há um tubo de sifão e um tubo de destilação. O material do cartucho é de papel de filtro celulose com espessura penetrável ao solvente (PENCHEV, 2010).

A montagem do sistema Soxhlet consiste de um aparelho extrator que é conectado na extremidade inferior a um balão contendo o solvente de extração, e este é aquecido a fim de promover a ebulição de seu conteúdo. Na extremidade superior, é acoplado um condensador arrefecido por um banho que liquefaz o vapor do solvente. No balão o solvente líquido é aquecido entrando em ebulição. A passagem de vapores segue pelo tubo de destilação e sobe em direção ao condensador de destilação. Em seguida, no condensador o solvente é liquefeito e acumulado até atingir o ápice do tubo de sifão e retornando o solvente para o balão, juntamente com as substâncias extraídas. O solvente no frasco torna-se progressivamente enriquecido em componentes solúveis e a extração continua até um tempo determinado. Os extratos brutos obtidos no Soxhlet ficam misturados com o solvente no balão até a etapa do processo de recuperação deste solvente.

De acordo com Luque-García e Castro (2003) as vantagens da extração com Soxhlet são: a renovação do solvente durante o processo,

o que aumenta o coeficiente de partição e a eficiência da extração; não há necessidade de filtração, o que simplifica o tempo de manuseio do extrato após a extração e os riscos de perda e/ou contaminação do extrato; além de apresentar maior reprodutibilidade.

### **2.7.2. Extração assistida por ultrassom**

De acordo com Luque-García e Castro (2003) e Melecchi et al. (2006) o ultrassom é um equipamento que utiliza a energia das ondas sonoras que são transmitidas em frequência superior à da capacidade auditiva humana. As ondas sonoras propagam-se na matéria, em frequências de 20,0 - 100,0 kHz, criando no meio que se propagam ciclos de dilatação e contração. Em um líquido, estes ciclos produzem uma pressão negativa, podendo originar bolhas ou cavitação, causando modificações físicas e químicas permanentes, como ruptura dos sólidos e instabilidade na interface de sistemas líquido-líquido e líquido-gás.

Os principais efeitos do ultrassom na extração de matrizes vegetais são o aumento do estresse mecânico das células, aumento da permeabilidade das paredes celulares, o que facilita a dilatação e hidratação do material por meio do aumento do tamanho dos poros da parede celular, melhorando o processo de difusão e de transferência de massa. O aumento no tecido celular pode, em alguns casos, quebrar a parede celular, causando a saída dos compostos aromáticos da célula, além de aumentar a eficiência da extração e/ou redução do tempo de extração, e aumentar a área de contato entre o sólido e a fase líquida. Contudo, o efeito do ultrassom no processo de extração depende da frequência e da potência do aparelho (JACQUES et al., 2006; YANG; ZHANG, 2008).

Segundo Jacques et al. (2006), o ultrassom é utilizado na extração de compostos voláteis de plantas com solventes orgânicos, em temperatura ambiente. Nesta técnica, a amostra triturada é misturada ao solvente e colocada em um recipiente, que é imerso em um banho de ultrassom, por um tempo determinado e a uma frequência própria do banho.

O tempo, a temperatura e o poder do ultrassom em diferentes tratamentos da casca de frutos cítricos foram avaliados por Ma et al. (2008) e provocaram efeito significativo no teor de compostos fenólicos totais com aumento de 41,45 % quando o tempo de extração foi ampliado de 10 para 60 minutos, à temperatura de 40 °C.

### **2.7.3. Extração por maceração**

A maceração é a técnica na qual a extração a frio da matéria prima vegetal é realizada em recipiente fechado, em temperatura ambiente, durante um período prolongado (horas ou dias), sob agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator (processo estático), para extrair os compostos de interesse. Pela sua natureza, não conduz ao esgotamento da matéria prima vegetal, seja devido à saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula (SIMÕES et al., 2010).

### **2.7.4. Hidrodestilação**

A hidrodestilação é um método antigo e versátil, sendo o mais usado comercialmente no Brasil para o isolamento de materiais voláteis. É o tipo de destilação utilizada para isolar substâncias que se decompõem nas proximidades de seus pontos de ebulição e que são insolúveis em água ou nos seus vapores de arraste (WATANABE et al., 2006).

De acordo com Leal et al. (2008) neste método, a matéria-prima é completamente imersa em água e então destilada, com a temperatura de operação não extrapolando os 100 °C. É adequada para a extração de óleo essencial de vários tipos de matrizes vegetais: flores, frutos, folhas, rizomas, raízes, sementes, casca de caule, castanhas, galhos ou pó.

Conforme Martínez et al. (2004) e Rosa e Meireles (2005) a extração por hidrodestilação é realizada por meio do método Clevenger, onde a matriz é imersa em água destilada e o processo é realizado à temperatura de ebulição da mistura. O aquecimento até 100 °C provoca formação de vapor que arrasta os compostos mais voláteis. A mistura de vapor e soluto passa por um condensador e, após a condensação, os compostos solúveis separam-se da água por decantação.

Nos processos de destilação, dois produtos são obtidos: o óleo volátil e o hidrolato, separados um do outro por decantação. Pequenas quantidades de compostos aromatizantes estão presentes no hidrolato, conferindo a ele agradável odor. Alguns hidrolatos possuem grande potencial de uso como fragrância nas indústrias de cosméticos, alimentos e farmacêuticas (LEAL et al., 2008).



### 2.7.5. Extração supercrítica

As técnicas mencionadas nos itens 2.7.1 a 2.7.4, utilizando solventes e à baixa pressão, podem produzir extratos de qualidade, mas os usos de temperatura elevada e de solventes líquidos podem fazê-los divergir da qualidade original. Associado com as elevadas temperaturas empregadas no processo estão os danos causados aos componentes, altamente sensíveis, de aromas, fragrâncias e princípios ativos farmacêuticos e a perda de componentes altamente voláteis, de baixa massa molar, que segundo Kitzberger et al. (2007) não podem ser recuperados e reincorporados ao extrato.

Nos últimos anos surgiram novas técnicas de extração, como a extração com fluido supercrítico. O emprego desta técnica em processos industriais vem ganhando espaço, principalmente devido aos fatores ambientais e de qualidade envolvidos: trata-se de um processo livre de resíduos tóxicos; não necessita de pós-processamento dos extratos para a recuperação do solvente, desde que não se empregue cossolvente; diminui a degradação térmica dos extratos, por permitir o emprego de baixas temperaturas e previne reações de oxidação, pela ausência de luz e oxigênio (MARTÍNEZ et al., 2004; ROSA; MEIRELES, 2005; MICHIELIN et al., 2005).

Este tipo de extração possui vantagens sobre as técnicas de extração à baixa pressão por ser um processo flexível devido à possibilidade de ajuste contínuo do poder de solvatação e seletividade do solvente bem como da temperatura e pressão (REVERCHON; DE MARCO, 2006; DÍAZ-REINOSO et al., 2006).

Um extrato obtido com CO<sub>2</sub> supercrítico conforme Díaz-Reinoso et al. (2006) pode ser aplicado na indústria alimentícia ou farmacêutica por possuir *status* de substância geralmente reconhecida como segura (GRAS - *Generally recognized as safe*). O elevado gradiente de pressão pode produzir extratos livres de microrganismos e seus esporos, com uma maior vida útil que extratos obtidos com solventes orgânicos.

O fluido submetido à pressão e temperatura acima de seu ponto crítico torna-se supercrítico. Várias propriedades dos fluidos são alteradas sob essas condições, tornando-se parecidas com as de alguns gases e líquidos. A densidade do fluido supercrítico é similar a dos líquidos, sua viscosidade assemelha-se a dos gases e sua capacidade de difusão é intermediária entre os dois estados. Portanto, o estado supercrítico de fluidos pode ser definido como o estado no qual líquido

e gás são indistinguíveis entre si (HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006).

Andreo e Jorge (2006) relataram que, devido à sua baixa viscosidade e alta capacidade de difusão, os fluidos supercríticos apresentam propriedades de transporte melhores que os líquidos. Podem se difundir facilmente através de materiais sólidos, resultando em melhores rendimentos nas extrações. O dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), o fluido mais utilizado devido a sua moderada temperatura (31,1 °C) e pressão crítica (73,8 bar), é gasoso em temperatura ambiente.

A habilidade dos fluidos supercríticos em remover componentes de uma matriz depende do modo de extração (estático, dinâmico, estático-dinâmico), das condições de extração (temperatura, pressão, tempo, massa) e das relações matriz-componente-fluido extrator, tais como a solubilidade do componente no fluido extrator, a interação componente-matriz, a localização do componente dentro da matriz e da porosidade da matriz (AGHEL et al., 2004).

Segundo Canuto, Souza Neto e Garruti (2009) fluido supercrítico é uma alternativa para obtenção de compostos menos voláteis ou fortemente ligada à matriz, todavia não é eficiente para substâncias polares. A extração supercrítica é uma operação unitária por contato que se fundamenta no equilíbrio e nas propriedades físico-químicas dos fluidos supercríticos. Esta técnica é particularmente efetiva no isolamento de substâncias de massa molar média e polaridade relativamente baixa (PEREDA; BOTTINI; BRIGNOLE, 2008).

### **2.7.6. Extração assistida por enzimas**

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), todas as partes da planta são recobertas por uma camada externa, cuja estrutura é essencialmente composta por material lipídico depositado em camadas. As células individuais são circundadas por uma estrutura relativamente rígida designada parede celular, cuja composição, forma, espessura e tamanho dependem da função das células que compõem o tecido e é composta por várias camadas. A lamela média é a camada mais externa que é composta principalmente de pectinas. A parede celular primária localiza-se após a lamela média e a secundária liga-se imediatamente do lado de dentro da parede primária, ambas consistem de microfibrilas de celulose trançadas em conjunto num padrão irregular, embebidas numa matriz amorfa composta de hemiceluloses, pectinas e proteínas.

A parede celular é uma estrutura muito complexa que possui diversas funções. Proporciona às células rigidez mecânica, mantém a sua morfologia, controla a expansão celular e transporte intercelular e protege a célula contra uma grande quantidade de organismos potencialmente patogênicos. Como muitas destas funções são exigidas ao mesmo tempo em vários estádios de desenvolvimento do vegetal, a parede celular possui simultaneamente, grande flexibilidade com um máximo de resistência, devido a um sofisticado controle metabólico, com regiões de extrema complexidade, com altos conteúdos de polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos (NASCIMENTO et al., 2012).

Segundo Coelho, Salgado e Ribeiro (2008), enzimas são catalisadores biológicos que participam de várias reações bioquímicas, tendo como papel fundamental o controle metabólico. Estas moléculas aceleram reações termodinamicamente favorecidas, sendo extremamente versáteis, estereoespecíficas, e de elevada importância nos processos biotecnológicos.

A maceração enzimática é uma tecnologia largamente aplicada no processamento de frutas com a finalidade de clivar as cadeias polissacarídicas da parede celular, utilizando-se enzimas hidrolíticas, dessa forma, aumentando o rendimento da extração do suco e aumentando a liberação de compostos funcionais presentes nos frutos, como antocianinas, vitaminas, polifenóis e compostos de aroma (SCHOUDHARI; ANANTHANARAYAN, 2007; RODRIGUES; FERNANDES, 2012).

De acordo com Gomes et al. (2007), nos preparados enzimáticos comerciais utilizados no processamento de sucos predominam as pectinases. Estas são um importante grupo de enzimas capazes de hidrolisar a pectina presente na lamela média e parede primária das células vegetais.

O uso de enzimas na maceração aumenta o rendimento da extração e melhora o processamento, melhorando a extração dos componentes da matriz analisada, dependendo das enzimas e das condições enzimáticas adotadas (MELLOU et al., 2005; SALEM et al., 2010; SILVA et al., 2012).

Vários estudos ressaltam o uso de enzimas, tendo em vista uma maior extração de materiais corantes e compostos químicos em geral. Segundo Almeida et al. (2005), as enzimas desempenham papel fundamental no processo de elaboração de sucos, atuando na

clarificação, filtração, extração e estabilidade do suco. Os pesquisadores Olivier et al. (2008) salientaram que a extração do suco envolve maceração seguida por processamento e decantação, para separar o suco das partes sólidas e que a maceração enzimática pode resultar na extração de 95% ou mais de sólidos solúveis das frutas.

Mariano, Couri e Freitas (2009) utilizando tecnologia enzimática para melhorar a extração do óleo da polpa de *Caryocar brasiliense* (pequi) constataram que o processo combinado, no qual se aplicou o tratamento aquoso enzimático seguido da prensagem, promoveu a hidrólise da parede celular e a redução da viscosidade da polpa, contribuindo com pelo menos 20% de aumento na produtividade da etapa de extração do óleo por prensagem.

Ribeiro, Coelho e Barreto (2012) concluíram que o processamento enzimático para produção de extrato de guaraná, seguido do pós-processamento do extrato com óxido de magnésio, representa uma alternativa interessante para a indústria alimentícia, pois permitiu a extração seletiva de cafeína e taninos das sementes de guaraná sem o emprego de condições severas de operação e sem o uso de solventes orgânicos inflamáveis, tóxicos e perigosos.

Santos e Pietro (2012) analisando falsa calêndula (*Melampodium divaricatum*) e hortelã (*Mentha spicata*) observaram o aumento de alguns compostos nas análises cromatográficas, sugerindo que foi resultado do processo de extração mais eficiente na presença de enzimas, fato este que pode ter sido ocasionado pelo rompimento total da parede celular, permitindo a saída de moléculas grandes e em maior quantidade.

Bagger-Jorgensen e Meyer (2004) testaram preparações enzimáticas sobre a liberação de fenóis em suco de groselha e constataram que os níveis obtidos foram 14-15 % maiores do que os extraídos sem enzimas.

De acordo com Landbo e Meyer (2004), o rendimento, o nível de antocianina, o nível de concentração de fenóis, assim como a limpidez do suco de groselha preta foi melhorado usando preparações de enzimas pectinolíticas de pré-prensagem em maceração.

Arnous e Meyer (2010) estudando a liberação em vinho tinto de substâncias fenólicas da pele de uva (*Vitis vinifera* L.) por meio de tratamento com enzimas, afirmaram ser esta a opção para liberação de fenóis durante degradação da parede celular vegetal.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Etapas e locais de execução do experimento**

As etapas de aquisição e seleção dos frutos, secagem e moagem das cascas, caracterização físico-química da farinha foram realizadas em Petrolina-PE no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano (IF SERTÃO-PE) nos laboratórios de Processamento de Vegetais da Agroindústria, de Análises Físico-Químicas da Escola do Vinho e de Controle de Qualidade de Alimentos localizados no *Campus* Petrolina Zona Rural; e a caracterização dos compostos fenólicos nos extratos foi realizada no Laboratório de Cromatografia da EMBRAPA Semiárido.

A granulometria da farinha, as extrações à baixa pressão sem uso de enzimas, supercrítica e assistida por enzimas, a determinação de rendimento e caracterização dos extratos quanto ao teor de fenólicos totais e atividade antioxidante foram realizadas em Florianópolis-SC na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) e no Laboratório de Engenharia Bioquímica (ENGEBIO) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos; e no Laboratório de Reologia e Biopolímeros do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

#### **3.2. Aquisição e seleção dos frutos**

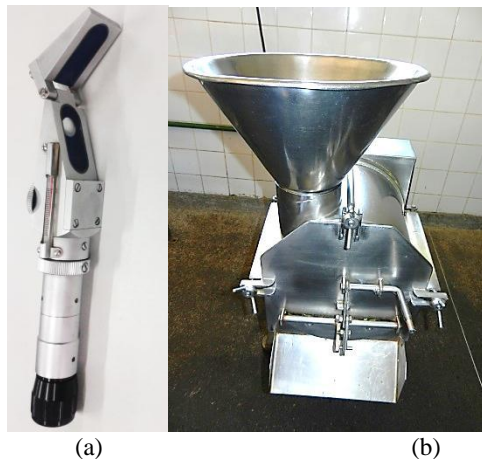
Os umbus (*Spondias tuberosa* Arruda) foram adquiridos entre os meses de janeiro e fevereiro de 2013 e provenientes dos municípios de Petrolina-PE, Moreilândia-PE e Jaguarari-BA em estágio de maturação variando de meio-maduro a maduro.

Os frutos foram visualmente selecionados pela coloração da casca e posteriormente por meio do teor de sólidos solúveis totais (SST), considerando aqueles com no mínimo 10 °Brix, determinado em refratômetro analógico portátil (107, Biobrix, São Paulo/SP) (Figura 5a), pois conforme Costa et al. (2004) durante a maturação o teor de SST aumenta para este valor nos frutos maduros.

Os frutos foram lavados em água corrente para remoção das sujidades grosseiras, higienizados com detergente neutro e sanitizados em solução clorada (10 mg/L de cloro livre) por trinta minutos seguido de enxague para remoção do cloro residual.

Após a seleção, os frutos foram levados a despoldadeira (Bonina 0.25df, Itametal, Itabuna/BA) a fim de separar a polpa das cascas e sementes (Figura 5b).

**Figura 5:** Refratômetro analógico portátil (a); despoldadeira (b). Fonte: Próprio autor.



As cascas provenientes deste procedimento foram separadas das sementes manualmente para serem submetidas à secagem.

### 3.3. Preparo da matéria-prima

As cascas de umbu foram submetidas a dois equipamentos para o processo de secagem artificial: um secador de bandejas (PE30 Classic, Limp Gold Pardal Indústria e Comércio de Equipamentos Eletromecânicos Ltda., Petrópolis/RJ) (Figura 6a) e uma estufa de esterilização e secagem (400/8D, Nova Ética Produtos e Equipamentos Científicos Ltda., Vargem Grande Paulista/SP) (Figura 6b), ambos com circulação forçada e renovação de ar, em uma temperatura constante de 50 °C, indicada para manter a qualidade e quantidade dos princípios ativos.

A média de perda de umidade das cascas em função do tempo de secagem dos dois equipamentos foi avaliada em intervalos regulares de tempo, as bandejas eram retiradas, pesadas rapidamente e recolocadas

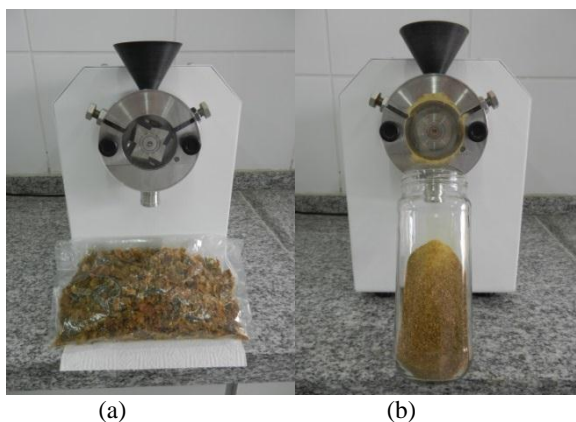
nos respectivos equipamentos, este procedimento foi repetido até obtenção de peso constante.

**Figura 6:** Secagem em secador de bandejas (a); secagem em estufa (b), ambos com circulação de ar forçada e a 50 °C. Fonte: Próprio autor.



As cascas secas do secador e da estufa foram moídas em um micro moinho de facas tipo Willey (SP30, SP Labor Equipamentos para Laboratórios, Presidente Prudente/SP) (Figura 7), obtendo-se as farinhas, que foram identificadas como farinha de cascas de umbu do secador (FCUS) e farinha de cascas de umbu da estufa (FCUE) para realização das análises físico-químicas preliminares.

**Figura 7:** Cascas secas de umbus para serem moídas no micro moinho (a); cascas moídas no micro moinho (farinha obtida) (b). Fonte: Próprio autor.



### 3.4. Caracterização físico-química das farinhas

As análises físico-químicas para caracterização das farinhas FCUS e FCUE consistiram em: umidade, pH, lipídios, cinzas, fibra insolúveis e proteína, realizadas de acordo com os métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (2008). A atividade de água ( $A_w$ ) foi realizada por meio de medidor portátil (Aw43, Etec Coml e Técnica Ltda, São Paulo/SP).

A determinação da umidade foi realizada por meio do método da estufa, que considera a perda de água e substâncias voláteis a 105 °C até peso constante. O pH por potenciometria e os valores foram medidos utilizando-se aparelho medidor de pH digital ( B474, Micronal S/A, São Paulo/SP). A determinação de lipídios foi realizada em extrator do tipo Soxhlet. O valor de cinzas foi fundamentado na perda de peso quando o produto foi incinerado em mufla a 550 °C durante 3 horas, com destruição da matéria orgânica. O teor de fibras insolúveis por meio de método enzimático-gravimétrico. E o teor de proteína foi feito por meio do método de micro *Kjedahl*, o qual consiste nas etapas de digestão, destilação e titulação.

Todas as análises foram realizadas em triplicata e o resultado expresso como média  $\pm$  desvio padrão.

Posteriormente foram unificadas e embaladas a 100 % de vácuo em sacos de polietileno, envolvidas em papel alumínio e armazenadas em temperatura de refrigeração em refrigerador doméstico até o transporte à cidade de Florianópolis-SC.

### 3.5. Granulometria da farinha

Uma porção da farinha unificada foi submetida à separação e classificação granulométrica em agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Caieiras/SP), com a finalidade de fracionar a matéria-prima em diferentes tamanhos de partícula e determinar o diâmetro médio das partículas. Pesaram-se cerca de 100 g de amostra em balança (BG 2000, Gehaka Ind. e Com. de Eletroeletrônicos Ltda., São Paulo/SP), com precisão de duas casas decimais de grama, utilizando as peneiras da série Tyler de 6, 14, 20, 24, 32, 48, 65, 80 mesh e fundo. O conjunto foi agitado por 30 minutos. Para a realização dos experimentos, utilizou-se a fração da matéria-prima compreendida entre



as peneiras de tamanho 20 a 32 mesh por ser o grupo de peneiras com maior quantidade de amostra retida.

### 3.6. Técnicas de extração

Os processos de extração da farinha de casca de umbu à baixa pressão sem uso de enzimas foram realizados por meio da extração com solventes orgânicos e hidrodestilação. Estas técnicas foram empregadas para avaliar o rendimento do processo de extração, composição e característica dos extratos. As extrações à baixa pressão sem uso de enzimas foram realizadas em triplicata e o resultado expresso como média  $\pm$  desvio padrão.

A extração com solventes orgânicos foi realizada por meio dos métodos Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração. Os solventes utilizados, escolhidos pela diferença de polaridade entre si e trabalhando os extremos foram: hexano P.A. (Hex), por apresentar polaridade nula; diclorometano P.A. (Dic), por apresentar polaridade intermediária; acetato de etila P.A. (Ace), por proporcionar bons resultados na extração de compostos fenólicos; etanol P.A. (Eta), por oferecer baixa toxicidade; água destilada (Água), por ser extremamente polar e fluido universal.

A Tabela 1 apresenta o índice de polaridade para estes solventes.

**Tabela 1:** Índice de polaridade de solventes utilizados nos processos de extrações à baixa pressão sem uso de enzimas

Solvente	Índice de polaridade
Hexano	0,0
Diclorometano	3,1
Acetato de etila	4,4
Etanol	5,2
Água	9,0

Fonte: Adaptada de Sadek (2002).

#### 3.6.1. Soxhlet

A extração direta em aparato Soxhlet foi realizada num sistema que consiste de um extrator que é acoplado na extremidade inferior a um balão de 250 mL e na extremidade superior a um condensador

arrefecido por um banho (MQBMP-01, Microquímica Ind. Com. Repr. Ltda., Palhoça/SC) (Figura 8).

**Figura 8:** Sistema de extração direta em Soxhlet. Fonte: Próprio autor.



De acordo com o método 920.39C da AOAC (2005) para cada extração 5 g de amostra foram pesadas em balança (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP) com precisão ao décimo de miligrama, envolvidos em um cartucho de papel de filtro celulose (filtro qualitativo, J.Prolab 80g com diâmetro de 12,5 cm, abertura dos poros de 14  $\mu\text{m}$  e espessura de 205  $\mu\text{m}$ ) o qual foi inserido no extrator. Foram utilizados 150 mL dos solventes selecionados, os quais foram acondicionados em balão de 250 mL e aquecidos por meio de uma manta de aquecimento (52 - Classe 300, Fisatom, São Paulo/SP) na temperatura de ebulição do solvente utilizado.

Em todas as extrações com Soxhlet manteve-se a proporção amostra:solvente igual à 1:30. Com a evaporação do solvente, este entrava no condensador e voltava à forma líquida, entrando em contato com a amostra e ocorrendo a extração dos compostos solúveis. Quando a mistura soluto/solvente preenchia o sifão, estes eram succionados, retornando ao balão onde o solvente era novamente aquecido. O processo de refluxo foi repetido até o final das 6 horas de extração.

As extrações foram realizadas em triplicata e os extratos brutos obtidos foram mantidos em refrigerador doméstico (Freezer Vertical

Eletrônico Flex 228L, Brastemp, São Paulo/SP) a 3 °C até o processo de recuperação do solvente.

### 3.6.2. Extração assistida por ultrassom

A extração assistida por ultrassom foi realizada em triplicata e adaptada de Gu et al. (2008).

O método consistiu de adicionar 7 g da amostra a 210 mL dos mesmos solventes utilizados na extração Soxhlet em um balão de 250 mL. O balão foi conectado em sua parte superior a um condensador de bolas interligado a um banho refrigerado (MQBMP-01, Microquímica Ind. Com. Repr. Ltda., Palhoça/SC), e na parte inferior do balão a solução foi submetida ao tratamento em banho indireto em ultrassom com o uso de uma lavadora ultrassônica (USC-700/55 kHz, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda., Indaiatuba/SP) pelo tempo de extração de 60 minutos (Figura 9).

**Figura 9:** Sistema de extração ultrassônica. Fonte: Próprio autor.



Após a extração, a solução de extrato foi separada da matriz à temperatura ambiente por meio da filtração com auxílio de bomba de vácuo (NT 613, Novatécnica, Piracicaba/SP) em funil de Büchner com papel de filtro celulose (filtro qualitativo, J.Prolab 80g com diâmetro de 12,5 cm, abertura dos poros de 14 µm e espessura de 205 µm).

Os extratos obtidos foram mantidos em refrigerador doméstico

(Freezer Vertical Eletrônico Flex 228L, Brastemp, São Paulo/SP) a 3 °C até ser realizado o processo de recuperação dos solventes.

### **3.6.3. Maceração**

O método de maceração consistiu em uma extração a frio da amostra. O procedimento foi realizado em triplicata e de acordo com Sachindra, Bhaskar e Mahendrakar (2006). Foram acondicionadas 25 g da amostra em um balão de fundo chato e adicionados 100 mL de solvente. A mistura de amostra e solvente foi mantida ao abrigo da luz por um período de cinco dias à temperatura ambiente e com agitação manual uma vez ao dia.

A separação da amostra e extrato foi realizada à temperatura ambiente por meio da filtração com auxílio de bomba de vácuo (NT 613, Novatécnica, Piracicaba/SP) em funil de Büchner com papel de filtro celulose (filtro qualitativo, J.Prolab 80g com diâmetro de 12,5 cm, abertura dos poros de 14 µm e espessura de 205 µm).

Os extratos brutos obtidos foram mantidos em refrigerador doméstico (Freezer Vertical Eletrônico Flex 228L, Brastemp, São Paulo/SP) a 3 °C até ser realizado o processo de recuperação dos solventes.

### **3.6.4. Hidrodestilação**

A hidrodestilação foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Santos et al. (2004), utilizando-se 50 g de farinha de casca de umbus, pesados em balança (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP), com precisão ao décimo de miligrama.

A amostra foi colocada em um balão de destilação de 2 L, imersa em 700 mL de água destilada. No setor de recuperação foram adicionados 2 mL de hexano (Merck S.A., Brasil) para dissolver o extrato e facilitar a sua separação da água condensada.

O balão de destilação foi aquecido em manta elétrica (102, Fisatom, São Paulo/SP) e mantido em ebulição por 6 horas, apresentando também um sistema de arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. Repr. Ltda., Palhoça/SC) para condensar o soluto extraído e os vapores de água (Figura 10).

As extrações foram realizadas em triplicata e os extratos obtidos passaram pela etapa posterior de recuperação do hexano.

**Figura 10:** Sistema de Clevenger na hidrodestilação. Fonte: Próprio autor.



### 3.6.5. Tratamento dos extratos e recuperação dos solventes

Os extratos obtidos das amostras por meio do Soxhlet, da extração assistida por ultrassom, maceração e hidrodestilação foram concentrados em rota- evaporador (801, Fisatom, São Paulo/SP) funcionando com rotação de 60 rpm, sob controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica Piracicaba/SP) com valor médio – 650 mmHg e arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda., Palhoça/SC) (Figura 11).

**Figura 11:** Sistema de tratamento de extratos e recuperação de solventes. Fonte: Próprio autor.



As temperaturas de evaporação foram ajustadas para valores inferiores aos pontos de ebulição dos solventes utilizados, para reduzir alterações do extrato devido à aplicação de calor.

Os extratos concentrados foram acondicionados em frascos âmbar, preenchidos com nitrogênio gasoso a fim de substituir atmosfera local por outra inerte, promovendo a diminuição de contaminação e degradação.

Em seguida foram armazenados em freezer doméstico (Freezer 260, Brastemp, São Paulo/SP) a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até a realização das análises de caracterização.

### **3.6.6. Extração Supercrítica**

Os experimentos de extração supercrítica (ESC) realizados visaram determinar as condições de temperatura e pressão nas quais o maior rendimento global e os melhores parâmetros de qualidade pudessem ser obtidos. As condições operacionais utilizadas na ESC do extrato de farinha de cascas de umbu foram selecionadas de forma que abrangessem uma ampla faixa de condições de massa específica de solvente supercrítico, buscando diminuir a degradação de compostos termossensíveis, como ocorre na extração com solventes orgânicos e na hidrodestilação, levando em consideração os limites de operação do equipamento utilizado.

Os testes iniciais, de cinética de extração supercrítica, foram realizados com o objetivo de definir o tempo de extração mais adequado a ser utilizado nas extrações com fluido  $\text{CO}_2$  supercrítico. A vazão de solvente foi de  $1,0 \pm 0,1$  kg/h e a massa de amostra foi de 30 g, medidos em balança com precisão ao décimo de miligrama. Foi utilizada a condição de pressão de 200 bar e temperatura intermediária de  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  para os ensaios da curva de extração, realizando os testes durante 7 horas.

O experimento de cinética (curva de extração) foi realizado no LATESC do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos por meio do método dinâmico de extração na unidade de extração supercrítica descrita por Zetzl, Lozano e Brunner (2007) desenvolvida e construída pelo Laboratório Thermische Verfahrenstechnik da Technische Universität Hamburg-Harburg (TUHH) na Alemanha, que opera até uma pressão máxima de 300 bar e vazões de solvente de 1,67 a 36,67 g/min (Figura 12).

**Figura 12:** Equipamento de extração supercrítica do LATESC. Fonte: Próprio autor.



As massas dos frascos de coleta também foram previamente medidas em balança com precisão ao décimo de miligrama, e a coleta dos extratos foi realizada em intervalos de tempo pré-determinados.

Após a coleta dos extratos, as massas dos frascos foram medidas novamente, determinando a massa de extrato obtida em função do tempo de extração. A curva cinética de extração foi construída por meio da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração.

Já os experimentos de determinação do rendimento global de extração foram realizados por meio do método de extração estático-dinâmico em extrator (SFT-100, Supercritical Fluid Technologies, Inc, Newark, Delaware, EUA) que opera até uma pressão máxima de 700 bar e vazões de solvente de 0,08 a 18 g/min no Laboratório de Reologia e Biopolímeros do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (Figura 13).

**Figura 13:** Equipamento de extração supercrítica do Laboratório de Reologia e Biopolímeros. Fonte: Próprio autor.



A duração das extrações foi de três horas e utilizou o modo combinado de extração, por uma hora no modo estático, no qual a coluna de extração foi lacrada, após a introdução da amostra cheia com o solvente extrator, e a extração procedeu somente com o solvente já existente na coluna; seguido de duas horas no modo dinâmico, no qual um fluxo contínuo de solvente passou sobre a coluna contendo a amostra, buscando melhorar, assim, o rendimento do processo.

As temperaturas utilizadas foram de 35, 45 e 55 °C e as pressões de trabalho foram de 200, 300 e 400 bar, nestas diferentes condições de pressão e temperatura o fluido apresenta diferentes densidades, o que permite aperfeiçoar a seletividade e possibilita a extração de diferentes classes de compostos.

Por meio deste método foi determinado o rendimento global de extração, definido como a quantidade percentual de soluto extraível do material sólido para determinadas condições de processo como temperatura, pressão, vazão do solvente, tempo e quantidade de matéria-prima utilizada na extração.

As extrações foram realizadas em triplicata e os extratos brutos obtidos foram acondicionados em frascos âmbar, preenchidos com nitrogênio gasoso a fim de substituir atmosfera local por outra inerte, promovendo a diminuição de contaminação e degradação. Em seguida foram armazenados em freezer doméstico (Freezer 260, Brastemp, São Paulo/SP) a -18 °C até a realização das análises de caracterização.



### 3.6.7. Extração assistida por enzimas

Os experimentos de extração assistida por enzimas realizados em triplicata visaram determinar as condições de tempo de reação e concentração nas quais o maior rendimento global e os melhores parâmetros de qualidade pudessem ser obtidos.

O preparado enzimático utilizado neste estudo foi o Endozym<sup>®</sup> Pectofruit PR foi obtido da Spindal – Pascal Biotech (Gretz-Armainvilliers, França) que é composto em sua maioria por pectinases, mas também há a presença de poligalacturonase, pectinametilsterase e celulase, obtidas a partir de *Aspergillus niger*, sendo recomendadas concentrações entre 2,0 e 4,0 mL.100 kg<sup>-1</sup> de matéria-prima e temperatura ótima de reação entre 50 e 60 °C, segundo informações do fabricante.

Foram pesadas 20 g de farinha de cascas de umbu e adicionaram-se 100 mL de água destilada em erlenmeyers de 250 mL. Foi realizada homogeneização manual e aquecimento em banho-maria até a temperatura de 55 °C, condição intermediária, dentre os valores definidos pelo fabricante. Em seguida foram adicionadas as concentrações a serem testadas: 2, 4, 6 mL.100 kg<sup>-1</sup>. Foi realizado também o controle no qual não se adicionou o complexo enzimático. Todas as amostras foram levadas ao *shaker* orbital (Figura 14) com temperatura controlada de 55 °C pelos tempos de incubação de 30, 60 e 90 minutos.

**Figura 14:** *Shaker* orbital com amostras em reação a 55 °C. Fonte: Próprio autor.



Ao término do tempo de reação, separaram-se as fases sólidas das fases líquidas e estas foram evaporadas em rota- evaporador (801, Fisatom, São Paulo/SP) com rotação de 60 rpm, sob controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica Piracicaba/SP) com valor médio – 650 mmHg e arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda., Palhoça/SC).

Os extratos obtidos foram acondicionados em frascos âmbar, preenchidos com nitrogênio gasoso a fim de substituir atmosfera local por outra inerte, promovendo a diminuição de contaminação e degradação. Em seguida foram armazenados em freezer doméstico (Freezer 260, Brastemp, São Paulo/SP) a -18 °C até a realização das análises de caracterização.

### **3.6.8. Rendimento em extrato**

Todos os experimentos de extração dos sistemas à baixa pressão sem uso de enzimas, supercrítica e assistida por enzimas foram realizados em triplicata e os rendimentos determinados pela razão entre a massa do extrato obtido e a massa de matéria-prima utilizada (base seca), e apresentados por média  $\pm$  desvio padrão. As medidas de massas das amostras, dos balões e dos frascos âmbar realizaram-se em balança com precisão ao décimo de miligrama (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP).

## **3.7. Caracterização dos extratos obtidos**

Os extratos obtidos nas extrações à baixa pressão sem uso de enzimas, supercrítica e assistida por enzimas de cascas de umbu desidratadas foram avaliados quanto ao teor de fenólicos totais (TFT), atividade antioxidante utilizando os métodos que empregam o radical DPPH, o radical ABTS e sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico e identificação e quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência.

### **3.7.1. Teor de fenólicos totais dos extratos**

A determinação do teor de compostos fenólicos totais presentes nos extratos de farinha de cascas de umbu foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, de acordo com Singleton e

Rossi (1965) e Peschel et al. (2006).

Cada um dos extratos testados foi diluído em etanol P.A., com exceção dos extratos da extração assistida por enzimas que foi diluído em água destilada, todos na concentração final de 1.667,0 mg/L. A reação de oxidação foi realizada em balões volumétricos de 10 mL, sendo transferido para estes 10 µL de amostra, aos quais foram adicionados 2 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, EUA).

Após 30 segundos e antes de 8 minutos após a adição do reativo, foi adicionado 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (Nuclear, CAQ Ind. e Com. Ltda., Brasil) a 20 % (m/v). O branco foi preparado com todos os reagentes, substituindo-se a amostra por água destilada. Os balões foram completados com água destilada até a marca de 10 mL, agitados e deixados em repouso ao abrigo da luz e temperatura ambiente por 2 horas para que a reação ocorresse.

A absorbância de cada uma das soluções foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (Femto, 800XI, Brasil).

Os valores de absorbância obtidos para cada um dos extratos foram correlacionados com uma curva analítica de ácido gálico apresentada por meio do gráfico de absorbância (ABS) versus concentração de ácido gálico (mg/L) no Apêndice B e o teor de compostos fenólicos total foi determinado por meio da Equação 1.

$$\text{Teor de Fenólicos Totais (mg GAE/g ext)} = \left\{ \frac{[\text{GAE} \times 1000]}{D_{\text{ext}}} \right\} \quad (1)$$

Onde GAE é o equivalente em ácido gálico obtido da curva (mg GAE/L), D: diluição das amostras (g ext/L).

A análise foi realizada em triplicata e o resultado expresso em mg GAE/g de extrato, como média ± desvio padrão.

### 3.7.2. Determinação da atividade antioxidante dos extratos

Neste trabalho foram selecionados três métodos para determinação da atividade antioxidante: captura do radical DPPH, inibição do radical ABTS e descoloração do sistema β-caroteno/ácido linoleico. Em todos os testes os solventes de diluição possuíam pureza analítica (99,5 %) e os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

### 3.7.2.1. Método de captura do radical DPPH

O teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Mensor et al. (2001), que consiste de uma reação de 30 minutos do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) com o extrato em solução etanólica.

Inicialmente 0,01 g de extrato de farinha de cascas de umbu foram diluídos em 10 mL de etanol, com exceção dos extratos da extração assistida por enzimas, os quais foram diluídos em 10 mL de água destilada. A solução do extrato foi dividida em tubos de ensaio em concentrações pré-determinadas entre 10 e 500 µg/mL. Em seguida, adicionou-se 1 mL de solução DPPH (0,003 g/ 25 mL). Após 30 min de reação a absorbância foi medida a 517 nm em espectrofotômetro (Femto, 800XI, Brasil).

Foi construída uma curva da atividade antioxidante em função da concentração de extrato, e os resultados foram expressos como a atividade antioxidante máxima, correspondente a 500 µg/mL e EC<sub>50</sub>, o qual se refere à concentração necessária para obter 50 % de atividade antioxidante. A atividade antioxidante foi determinada de acordo com a Equação 2.

$$AA\% = 100 - \left[ \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{Abs_{controle}} \right] \quad (2)$$

Onde: Abs<sub>amostra</sub> é a absorbância da amostra, Abs<sub>branco</sub> a absorbância do branco da amostra e Abs<sub>controle</sub> é a absorbância do controle.

As medidas foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média ± desvio padrão.

### 3.7.2.2. Método de inibição do radical ABTS

Por meio da metodologia descrita por Re et al. (1999) verificou-se a capacidade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu em sequestrar o radical cátion 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS), comparado a um antioxidante de referência, o Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico) um análogo solúvel da vitamina E, utilizado na construção da curva analítica.

O radical ABTS foi dissolvido em água até a concentração de 7,0 mmol/L, e submetido à reação com 2,45 mmol/L de persulfato de potássio. A mistura ficou armazenada em refrigerador, protegida da luz, 16 horas antes do uso. A solução do radical ABTS foi diluída em etanol até uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  a 734 nm.

Prepararam-se soluções etanólicas de 20  $\mu$ L de extrato nas concentrações de 100, 250, 500 e 1000  $\mu$ g/mL em tubos de ensaio em triplicata. Adicionou-se 980  $\mu$ L de solução de ABTS nos tubos de ensaio e após 6 minutos as absorbâncias foram lidas. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Femto, 800XI, Brasil), e a partir delas calculou-se a porcentagem de inibição do radical, conforme Equação 3:

$$\% \text{ Inibição} = 1 - \left[ \frac{Absf}{Abs0} \right] \cdot 100 \quad (3)$$

Onde: Absf é a absorbância após a adição da solução do radical ABTS na solução de extrato para o tempo de 6 minutos e Abs0 é a absorbância do radical.

Uma curva analítica foi plotada em função da porcentagem de inibição do radical ABTS pelas diferentes concentrações de Trolox ( $\mu$ mol/mL). Após a obtenção do percentual de inibição do respectivo extrato a atividade antioxidante foi calculada por meio da Equação 4 com base na curva analítica de Trolox.

$$AA(\%) = \frac{Ca}{Ce} \quad (4)$$

Onde: Ca é a concentração ( $\mu$ M) referente ao percentual de inibição obtido por meio das leituras espectrofotométricas do extrato e Ce é a concentração do extrato utilizada na técnica.

A concentração de extrato tomada foi a de 500  $\mu$ g/mL, para permitir a comparação com a técnica do radical DPPH. Desta forma, como a análise foi realizada em triplicata, os resultados foram expressos em  $\mu$ mol TEAC/g (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) por g de extrato, como média  $\pm$  desvio padrão. A curva analítica de Trolox é apresentada no Apêndice C.

### 3.7.2.3. Método de descoloração do sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico

A atividade antioxidante a partir do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico foi realizada de acordo com o método descrito por Matthäus (2002).

Sucintamente, 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 20, foram transferidos para um frasco com 1 mL de uma solução de  $\beta$ -caroteno-clorofórmio (3,34 mg/mL). O clorofórmio foi removido por evaporação a 40° C. Em seguida, 100 mL de água destilada foram adicionados lentamente e agitado vigorosamente para formar uma emulsão estável de  $\beta$ -caroteno. Uma segunda emulsão foi elaborada com os mesmos reagentes da primeira, mas sem o  $\beta$ -caroteno, formando a emulsão de Branco.

Uma alíquota de 5 mL da emulsão de  $\beta$ -caroteno foi adicionada a 0,2 mL de solução de extrato etanólico (1.667,0 mg/mL) em tubos de ensaio, em triplicata, e a absorvância foi medida imediatamente a 470 nm em espectrofotômetro (Femto, 800XI, Brasil). Procedeu-se da mesma maneira para a leitura da emulsão de branco.

Os tubos foram colocados num banho de água a 50 °C e a absorvância foi medida novamente após 120 minutos. Os valores de absorvância foram convertidos em percentagem de atividade antioxidante calculada pela Equação 5.

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{[(Abs_{t=0} amostra - Abs_{t=0} branco) - (Abs_{t=120} amostra - Abs_{t=120} branco)]}{(Abs_{t=0} controle - Abs_{t=120} controle)} \right\} * 100 \quad (5)$$

Onde: Abs (t=0) absorvância da amostra, controle ou branco no tempo zero e Abs (t=120) absorvância da amostra, controle ou branco após 120 minutos.

As medidas foram realizadas em triplicata os resultados foram expressos em percentagem de atividade antioxidante, como média  $\pm$  desvio padrão.

### 3.7.3. Caracterização de compostos fenólicos dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Os compostos fenólicos dos extratos de farinha de cascas de umbu foram identificados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência em cromatógrafo Waters modelo Alliance e2695, equipado com bomba de solvente quaternário e injetor automático, acoplado a detector de arranjos de diodos (DAD) e detector de fluorescência (DF), conforme metodologia descrita por Corrêa et al. (2012).

Para o detector de arranjos de diodos foram utilizados os comprimentos de onda de 280 nm para o ácido gálico, (-) -epicatequina galato, (-) -epigallocatequina galato e ácido siríngico; 320 nm para o *t*-resveratrol, ácido cinâmico, ácido *o*-cumárico e ácido *p*-cumárico; e 360 nm para os flavonóis: *kaempferol 3-O*-glicosídeo, miricetina, quercetina, quercetina piranosídeo, rutina e isoramnetina. Para o detector de fluorescência, a excitação se deu em 280 nm e a emissão em 320 nm para (+) -catequina, (-) -epicatequina, procianidina A2, procianidina B1, procianidina B2 e ácido benzóico.

A coluna utilizada foi a Gemini-NX C18, 150 x 4,60 mm, com partículas internas de 3  $\mu\text{m}$ , e pré-coluna Gemini-NX C18, 4,0 x 3,0 mm, ambas da Phenomenex®. A temperatura do forno foi mantida em 40 °C e o volume de injeção de 10  $\mu\text{L}$  de extrato, previamente filtrado em membrana de 0,45 $\mu\text{m}$  (Allcrom-Phenomenex, USA), com fluxo de 0,6  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . O gradiente utilizado na separação se deu a: 0 min: 100% A; 10 min: 93% A e 7% B; 20 min: 90% A e 10% B; 30 min: 88% A e 12% B; 40 min: 77% A e 33% B; 45 min: 65% A e 35% B e 55 min: 100% B. Fase A (fosfato de potássio diácido) e Fase B (acetronitrila e metanol).

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para o método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a detector de arranjos de diodos (DAD) e detector de fluorescência (DF) foram estimados como 3 e 10 desvios padrão da média, respectivamente, dos resultados obtidos e estes foram considerados aceitáveis para os fins propostos.

A obtenção e processamento dos dados foram realizados utilizando o Software Empower™ 2 (Milford, EUA).

### 3.8. Análise estatística

O rendimento das extrações, o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) seguida por teste de comparação múltipla de Tukey, ambos com nível de confiança de 95%, a fim de verificar se existiu diferença significativa entre as médias dos tratamentos e se os fatores de origem quantitativa exerceram influência em alguma variável dependente.

Também foi realizada análise de componentes principais (ACP) do tipo “Biplot” sendo plotados os tratamentos de extração e as variáveis analíticas, de modo que reduziu o número de variáveis inter-relacionadas e transformou o conjunto de variáveis originais em um novo conjunto de variáveis mantendo, ao máximo, a variabilidade do conjunto e permitiu o agrupamento de indivíduos similares mediante exames visuais, em dispersões gráficas no espaço bidimensional, de fácil interpretação geométrica.

Foram aplicadas análises de correlação de Pearson a 5% e 1% de probabilidade para avaliar a força de correlação entre compostos fenólicos quantificados e atividade antioxidante, que mediu o grau de relacionamento entre as variáveis e demonstrou com precisão, o quanto uma variável interferiu no resultado de outra.

Todos os testes estatísticos foram realizados com auxílio do programa SPSS Version 17.0 statistical package for Windows (SPSS, Chicago, USA).



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Determinação do teor de sólidos solúveis dos frutos de umbu

Os frutos de umbu divididos em dois grupos, um para utilização no processo de desidratação em secador e outro para desidratação em estufa, foram avaliados quanto ao teor de sólidos solúveis totais (SST) para determinação do estágio de maturação dos frutos empregados na elaboração das farinhas de cascas de umbu.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), a mudança na coloração da cor da casca das frutas é um dos primeiros sinais perceptíveis do início da maturação. Outro indicador do estágio de maturação é o teor de sólidos solúveis totais (SST), pois à medida que avança a maturação ocorre um aumento destes constituintes nos frutos.

O percentual de sólidos solúveis totais dos frutos que foram submetidos à desidratação em secador foi de  $12,97 \pm 0,00^a$ , enquanto dos frutos submetidos à desidratação em estufa foi de  $12,27 \pm 0,10^b$ .

Em relação aos teores de SST foram encontrados valores com diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), provavelmente pelo caráter biológico dos frutos e pelas condições edafoclimáticas dos locais onde foram obtidos.

Os valores são superiores ao encontrado por Costa et al. (2004), que analisaram os frutos do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) em diferentes estádios de maturação encontraram o valor de 10,0 % para os frutos azedos e doces em estágio de maturação avançada. Os resultados desse trabalho foram próximos ao de Campos (2007), que avaliou frutos de umbuzeiro em cinco estádios de desenvolvimento e observou teor de sólidos solúveis maior à medida que os frutos avançavam a maturação, o maior conteúdo foi de 12,3 % no fruto considerado maduro.

Os resultados também estão condizentes com as pesquisas de Sales et al. (2004) quando afirmou que durante o amadurecimento do fruto, ocorre aumento no teor de sólidos solúveis devido à hidrólise do amido e da pectina. Resultados semelhantes também foram constatados por Lima et al. (2002), quando estudaram umbu-cajazeira (*Spondias spp*).

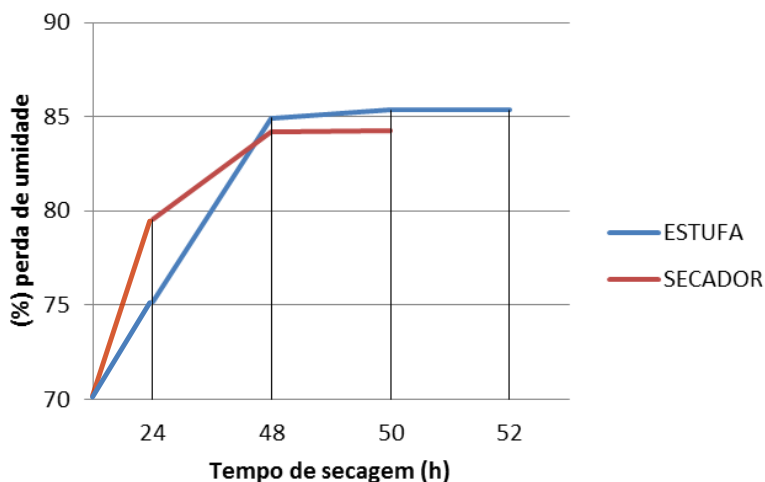
Assim, os valores encontrados evidenciam que os frutos de umbus utilizados neste experimento encontravam-se no estágio maduro, ratificando a relação direta entre o teor de SST e o seu estágio de maturação, assim como ocorre com a maioria dos frutos de outras

fruteiras tropicais.

#### 4.2. Secagem das cascas do umbu e avaliação dos equipamentos utilizados

As médias de perda de umidade das cascas de umbu em função do tempo de secagem em condição de temperatura constante de 50 °C, obtidas no secador de bandejas e na estufa de esterilização e secagem estão expressas na Figura 15.

**Figura 15:** Média de perda de umidade das cascas de umbu em função do tempo de secagem entre os equipamentos utilizados.



De acordo com a Figura 15, observa-se que a perda de umidade nas primeiras 24 horas foi maior no secador de bandejas. Quanto ao comportamento da secagem, o secador de bandejas foi mais eficiente do que a estufa de esterilização e secagem no que se refere ao tempo, uma vez que a perda de peso das cascas de umbu manteve-se constante com 48 horas de secagem, contra 50 horas observadas em estufa, o que também pode implicar em um menor custo energético da utilização de calor, quando emprega-se o secador de bandejas.

Na secagem por estufa de esterilização a umidade inicial média, de 85,35 % foi reduzida a 5,88 %, enquanto no secador de bandejas a

umidade inicial média, de 84,24 % foi reduzida a 5,35 %. Nos dois equipamentos a variação da perda de massa das cascas de umbu foi maior no começo da secagem correspondendo à retirada da água que, mais superficial, possui pressão de vapor maior e, portanto, é retirada com maior facilidade, posto que necessite de menor energia.

### 4.3. Caracterização físico-química das farinhas

Os resultados da caracterização físico-química das farinhas de cascas de umbu obtidas no secador e na estufa encontram-se descritos na Tabela 2.

**Tabela 2:** Caracterização físico-química das farinhas de cascas de umbu obtidas por meio das secagens em secador e em estufa.

Variáveis	FCUS <sup>1</sup>	FCUE <sup>2</sup>
Umidade (g.100 g <sup>-1</sup> )	8,7 ±0,1 <sup>a</sup>	8,6 ±0,2 <sup>a</sup>
Aw <sup>3</sup>	0,35 ±0,01 <sup>a</sup>	0,34 ±0,01 <sup>a</sup>
pH	1,82 ±0,01 <sup>a</sup>	1,76 ±0,01 <sup>b</sup>
Proteínas (g.100 g <sup>-1</sup> )	4,69 ±0,06 <sup>a</sup>	4,79 ±0,08 <sup>a</sup>
Lipídios (g.100 g <sup>-1</sup> )	1,20 ±0,03 <sup>a</sup>	1,03 ±0,02 <sup>b</sup>
Cinzas (g.100 g <sup>-1</sup> )	3,00 ±0,04 <sup>a</sup>	2,93 ±0,05 <sup>b</sup>
Fibras Insolúveis (g.100 g <sup>-1</sup> )	12,5 ±0,3 <sup>a</sup>	12,3±0,3 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>: Farinha de Cascas de Umbu do Secador; <sup>2</sup>: Farinha de Cascas de Umbu da Estufa; <sup>3</sup>: Atividade de água. Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores de umidade encontrados para FCUS (8,65 %) e FCUE (8,64 %) revelaram que as farinhas estão de acordo com os requisitos estabelecidos pela Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, que estabelece um percentual máximo de 15,0 % de umidade para farinhas vegetais (BRASIL, 2005).

Os percentuais de umidade foram próximos ao valor encontrado por Abud e Narain (2009), que avaliaram a composição dos resíduos de umbu compostos de casca com polpa aderida, restos de polpa prensada, fibras e sementes (desidratados a 55 °C) e encontraram o valor de 8,88 % para umidade. Os valores encontrados no presente estudo corroboram também com o valor de umidade (8,54 %) encontrado por Silva (2012) que analisou resíduo de umbu (pó das sementes desidratadas a 60 °C).

Os valores de atividade de água ( $FCUS=0,35$ ;  $FCUE=0,34$ ) demonstraram que as farinhas são microbiologicamente estáveis, pois apresentaram a atividade de água abaixo de 0,6 que é considerada limitante para o desenvolvimento dos microrganismos (leveduras, fungos e bactérias termófilas). Deste modo, os microrganismos não encontram condições favoráveis para a sua multiplicação nas farinhas de cascas de umbu, apresentando durabilidade semelhante a das farinhas comerciais, uma vez que tem atividade de água equivalente (GAVA; SILVA; FRIAS, 2010).

Azevedo et al. (2008) caracterizaram farinha de cascas de manga cv. *Tommy atkins* e encontraram valor de  $A_w$  igual a 0,4, bem próximo aos valores encontrados no presente trabalho.

Os valores de pH encontrados para FCUS e FCUE apresentaram diferença significativa entre eles provavelmente devido ao caráter biológico dos frutos, às condições edafoclimáticas dos locais onde foram obtidos e ao método e tempo de secagem empregado.

Embora o umbu seja um fruto de pH naturalmente ácido, ainda pode ocorrer redução durante o processo de secagem e os valores revelaram que as farinhas podem ser consideradas alimentos muito ácidos, pois apresentaram pH inferior a 4,0, o que propicia uma maior estabilidade, dificultando, assim, o desenvolvimento de microrganismos.

O valor de pH encontrado por Abud e Narain (2009) de 3,12, diferiu do presente trabalho, provavelmente porque a farinha analisada por eles foi elaborada com as cascas, restos de polpa prensada, fibras e sementes de umbu. Costa et al. (2004) avaliaram umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) em diferentes estádios de maturação e relataram valor de pH de 2,26 nos frutos maduros “azedos”.

Para Philippi (2008), as frutas, legumes e verduras fornecem pequenas quantidades de proteína, entretanto esse macronutriente encontra-se predominantemente nas cascas e sementes.

Os resultados do teor de proteína das farinhas do presente trabalho elaboradas exclusivamente com as cascas de umbu estão em desacordo do encontrado por Abud e Narain (2009), que avaliaram a composição dos resíduos de umbu compostos de cascas com polpa aderida, restos de polpa prensada, fibras e sementes, e encontraram o valor de 0,43 % e de Silva (2012), que analisou resíduo de umbu (pó das sementes) e encontrou 16,38 % de proteína. Essas discrepâncias decorrem possivelmente pelas distintas partes de frutas utilizadas como resíduo, além de fatores relacionados ao clima, solo, estágio de

maturação dos frutos, dentre outros.

Os valores de lipídios encontrados para FCUS (1,20 %) e FCUE (1,03 %) apresentaram diferença significativa entre eles provavelmente relacionada ao método e tempo de secagem empregado. Os lipídios podem ser perdidos proporcionalmente ao calor e os valores encontrados demonstraram que as farinhas possuem baixos teores de gordura. Os valores de lipídios do presente trabalho diferem dos encontrados por Abud e Narain (2009) (10,75 %) e Silva (2012) (16,63 %). Esta discrepância justifica-se pelo fato de os primeiros pesquisadores terem utilizado na elaboração de suas farinhas além das cascas, as sementes de umbu e, no último apenas as sementes, sendo estas as partes mais ricas neste componente.

O conteúdo mineral encontrado para FCUS (2,93 %) e FCUE (3,00 %) apresentou diferença significativa provavelmente pelo caráter biológico dos frutos, pelas condições edafoclimáticas dos locais onde foram obtidos e pelo método e tempo de secagem empregado. De acordo com Ordóñez (2005) esta diferença pode ser explicada por diversos fatores, entre eles a composição do solo, que pode interferir na presença de minerais nos alimentos.

Os valores de cinzas podem estar relacionados a uma elevada concentração de minerais presentes nas cascas após o processo de secagem e estão de acordo com o teor máximo de 4 % permitido para a farinha de vegetais pela legislação brasileira (SANTOS et al., 2011), revelando que as farinhas possuem fonte de nutrientes que podem ser aproveitados na dieta humana. O conteúdo de cinzas do presente estudo corresponde ao valor de Silva (2012), que analisando os resíduos (sementes) desidratados de umbu encontrou 3,19 % de cinzas.

Os valores de fibras encontrados para FCUS (12,54 %) e FCUE (12,31 %) demonstraram que as farinhas possuem altos teores destes constituintes, pois conforme RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012 da ANVISA, são considerados alimentos com alto conteúdo de fibras os que apresentam no mínimo 6 % de fibras (BRASIL, 2012).

O teor de fibras insolúveis das cascas de umbu possivelmente também foi afetado pela desidratação, uma vez que a redução do teor de água implica na concentração dos demais componentes da fruta, dentre eles as fibras. Os valores encontrados foram inferiores aos de Abud e Narain (2009) (13,52 %) e superiores ao de Silva (2012) (8,82 %).

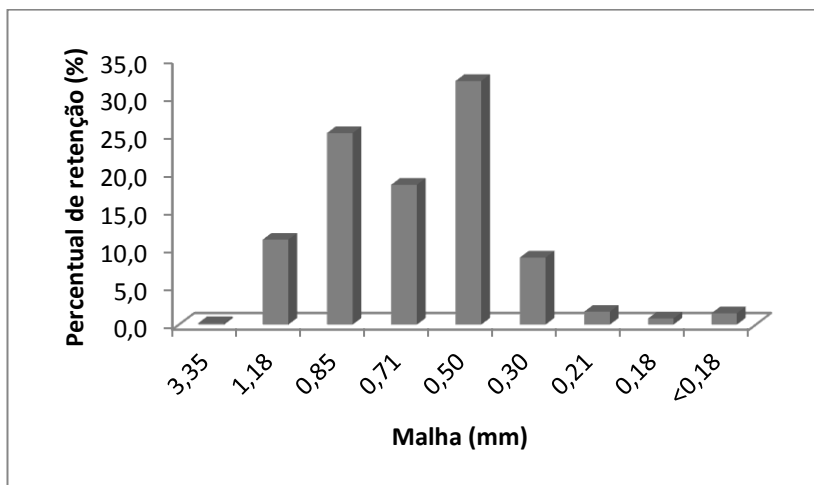
#### 4.4. Análise granulométrica

A distribuição granulométrica da farinha de cascas de umbu é apresentada na Tabela 3 e ilustrada na Figura 16.

**Tabela 3:** Análise granulométrica da farinha de cascas de umbu.

ASTM	Peneira Mesh	mm	Farinha % de Retenção
6	6	3,35	0,20
16	14	1,18	11,20
20	20	0,85	25,23
25	24	0,71	18,44
35	32	0,50	32,08
50	48	0,30	8,84
70	65	0,21	1,70
80	80	0,18	0,81
	Fundo		1,49

**Figura 16:** Distribuição do tamanho de partículas da farinha de cascas de umbu.



Observa-se que a farinha de cascas de umbu apresentou distribuição com maior volume de partículas em 0,50 mm. Os resultados

da granulometria efetuada demonstraram que 75,76 % das partículas da farinha apresentaram tamanho entre 0,50 e 0,85 mm, evidenciando que a matéria-prima apresentava partículas com dimensões relativamente homogêneas.

#### 4.5. Determinação do rendimento global de extrato ( $X_0$ )

##### 4.5.1. Extratos obtidos à baixa pressão

As médias, desvios padrões e resultados do teste de Tukey dos rendimentos dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos por meio das técnicas de extração à baixa pressão sem uso de enzimas, como Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração (com diferentes solventes); e hidrodestilação, estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Rendimento global de extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extrações à baixa pressão sem uso de enzimas com diferentes solventes.

Técnica de extração	Solvente	IP do solvente	$X_0$ (%)
Soxhlet	Hexano	0,0	0,51 <sup>e</sup> ± 0,04
	Diclorometano	3,1	0,8 <sup>e</sup> ± 0,2
	Acetato de etila	4,4	2,5 <sup>e</sup> ± 0,3
	Etanol	5,2	39 <sup>b</sup> ± 2
	Água	9,0	25 <sup>c</sup> ± 3
Assistida por ultrassom	Hexano	0,0	1,53 <sup>e</sup> ± 0,06
	Diclorometano	3,1	1,02 <sup>e</sup> ± 0,07
	Acetato de etila	4,4	1,3 <sup>e</sup> ± 0,9
	Etanol	5,2	18 <sup>d</sup> ± 3
	Água	9,0	62 <sup>a</sup> ± 4
Maceração	Hexano	0,0	1,3 <sup>e</sup> ± 0,1
	Diclorometano	3,1	1,5 <sup>e</sup> ± 0,4
	Acetato de etila	4,4	1,3 <sup>e</sup> ± 0,3
	Etanol	5,2	23 <sup>c</sup> ± 1
	Água	9,0	36 <sup>b</sup> ± 2
Hidrodestilação	Água	9,0	0,5 <sup>e</sup> ± 0,2

IP: Índices de polaridades;  $X_0$ : Rendimento global. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados apresentados na Tabela 4 indicam que o maior rendimento foi obtido por meio da extração assistida por ultrassom com água apresentando diferença significativa de todos os demais, alcançando valor de 62 % (m/m).

O alto rendimento das extrações Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração utilizando água como solvente pode estar relacionado com a possível solubilização de carboidratos hidrossolúveis (pectinas, mucilagens, gomas e hemiceluloses) e indicar uma alta polaridade dos compostos presentes nas cascas dos umbus.

De acordo com Michielin et al. (2009), na hidrodestilação, a ebulição da água provoca a formação de vapor e conseqüente arraste dos compostos voláteis presentes na amostra. O extrato obtido nestas condições é caracterizado como óleo essencial, enquanto que nos demais processos de extração são obtidos misturas de compostos de diferentes classes. Justifica-se assim, o menor rendimento para extração em hidrodestilação no presente trabalho.

Ao se comparar os métodos de extração Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração aqui empregados para um mesmo solvente, nota-se que acetato de etila, diclorometano e hexano não diferiram significativamente entre si e apresentaram os menores rendimentos. Enquanto, etanol e água apresentaram diferença significativa em relação aos métodos empregados e proporcionaram os maiores rendimentos, podendo tal fato ser justificado pelas interações solventes-componentes que podem ter contribuído para maiores dissoluções e taxas de extração, indicando que as cascas de umbu provavelmente possuem grande quantidade de compostos com polaridade alta.

O resultado encontrado com etanol (18 %) na extração assistida por ultrassom do presente trabalho foi próximo do registrado no extrato etanólico de polpas de umbu por Omena et al. (2012) que foi de 17,5 %.

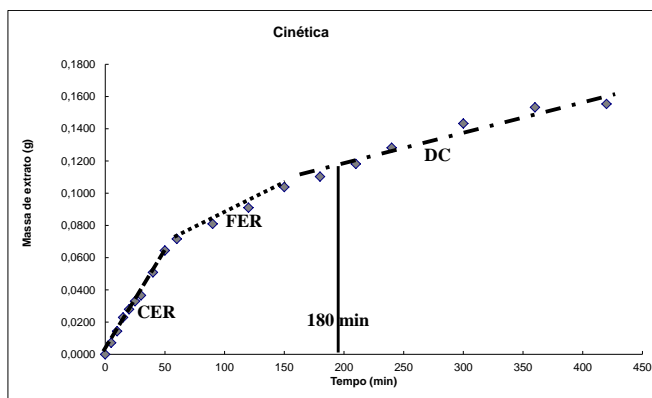
#### **4.5.2. Extratos obtidos em extração supercrítica**

A avaliação de rendimento para o extrato de farinha de cascas de umbu obtido por meio de ESC foi realizada levando em conta as condições de temperaturas e pressões propostas na metodologia e o tempo de extração, fixado e definido com base nas etapas de taxa constante de extração CER (*constant extraction rate period*), de taxa decrescente de extração FER (*falling extraction rate period*) e na etapa



controlada pela difusão DC (*diffusion-controlled rate period*) da curva de extração realizada previamente (Figura 17).

**Figura 17:** Curva de extração com fluido supercrítico de farinha de cascas de umbu a 200 bar, 45° C e  $1,0 \pm 0,1$  kg/h de CO<sub>2</sub>.



De acordo com Mezzomo, Martinez e Ferreira (2009), o tempo foi definido de forma que a etapa difusiva fosse alcançada e garantisse que a maior parte de soluto fosse extraída. Observando o comportamento da curva de extração padronizou-se o tempo de extração em 180 minutos.

As médias, desvios padrões e resultados do teste de Tukey do rendimento da ESC em função das diferentes condições de pressão e temperatura empregadas estão apresentados na Tabela 5.

De acordo com a Tabela 5 o maior rendimento de ESC obtido para a farinha de cascas de umbu foi de 0,3 % (m/m) para as condições de 200 bar e 55 °C, diferindo estatisticamente apenas do resultado obtido de 200 bar na temperatura de 35 °C ( $p < 0,05$ ), que foi o menor rendimento com valor de 0,04 % (m/m). Todas as demais condições não diferiram estatisticamente entre si.

Os resultados do efeito da temperatura na taxa de extração a uma pressão constante demonstraram que o rendimento da extração aumentou com o aumento da temperatura nas pressões constantes de 200, 300 e 400 bar.

**Tabela 5:** Rendimento global de extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica nas condições testadas.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	$\rho\text{CO}_2$ (g/cm <sup>3</sup> ) <sup>1</sup>	X <sub>0</sub> (%)
35	200	0,866	0,04 <sup>b</sup> ± 0
	300	0,930	0,16 <sup>ab</sup> ± 0,08
	400	0,973	0,19 <sup>ab</sup> ± 0,03
45	200	0,813	0,20 <sup>ab</sup> ± 0,04
	300	0,891	0,28 <sup>a</sup> ± 0,06
	400	0,940	0,3 <sup>a</sup> ± 0,1
55	200	0,755	0,3 <sup>a</sup> ± 0,1
	300	0,851	0,28 <sup>a</sup> ± 0,06
	400	0,907	0,27 <sup>a</sup> ± 0,09

$\rho$ : massa específica; X<sub>0</sub>: Rendimento global; <sup>1</sup>: Angus, Armstrong e Reuck (1976). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Conforme Carvalho Junior et al. (2003), o efeito da temperatura na taxa de extração, a uma pressão constante, pode ocorrer, de forma inversa, por dois mecanismos: um aumento na temperatura do processo aumenta a solubilidade devido ao aumento da pressão de vapor do soluto e também reduz a solubilidade devido à diminuição da densidade do solvente.

Este aumento no rendimento com a temperatura deve-se ao aumento da pressão de vapor do soluto que supera o efeito da diminuição da densidade do solvente, e promove uma maior solubilização do soluto no solvente supercrítico. Este comportamento representa a influência da pressão de vapor do soluto e da densidade do solvente na solubilidade do fluido supercrítico e no rendimento global da ESC (MICHIELIN et al., 2005; ALMEIDA; FERREIRA, 2007).

#### 4.5.3. Extratos obtidos em extração assistida por enzimas

A avaliação de rendimento para o extrato de farinha de cascas de umbu obtido por meio de extração assistida por enzimas foi realizada levando em conta as condições experimentais propostas na metodologia.

As médias, desvios padrões e resultados do teste de Tukey do rendimento da extração com e sem o uso de enzimas em função das

diferentes concentrações e tempos de reação empregados estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6:** Rendimento global de extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas nas condições testadas.

Concentração (mL.100 kg <sup>-1</sup> )	Tempo (min)	X <sub>0</sub> (%)
0	30	46 <sup>d</sup> ± 4
	60	57 <sup>bcd</sup> ± 11
	90	50 <sup>cd</sup> ± 5
2	30	40,8 <sup>d</sup> ± 0,8
	60	62 <sup>abcd</sup> ± 10
	90	56 <sup>cd</sup> ± 6
4	30	55 <sup>cd</sup> ± 8
	60	80 <sup>a</sup> ± 8
	90	68 <sup>abc</sup> ± 8
6	30	46 <sup>d</sup> ± 5
	60	78 <sup>ab</sup> ± 8
	90	47 <sup>cd</sup> ± 8

X<sub>0</sub>: Rendimento global. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

De acordo com a Tabela 6 as variáveis, tempo de reação e concentração, empregadas na extração assistida por enzimas influenciaram no rendimento do extrato da farinha de cascas de umbu.

Os melhores resultados foram obtidos no tempo de reação de 60 minutos com o uso de enzimas em todas as concentrações testadas, e a condição mais vantajosa do ponto de vista econômico foi a de 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> em reação por 60 minutos por ter atingido o maior rendimento, 80 % (m/m).

Os resultados do efeito do tempo na taxa de extração a uma concentração constante demonstraram que o rendimento da extração tem diferenças significativas apenas nas concentrações de 4 e 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> e tem um acréscimo quando aumenta de 30 para 60 minutos em reação.

Os resultados do efeito das concentrações na taxa de extração por tempo de reação constante demonstraram que o rendimento da extração tem diferenças significativas apenas no tempo em reação por 60 minutos entre o tratamento controle sem adição de enzimas e o que utilizou a concentração 4 mL.100 kg<sup>-1</sup>.

De acordo com os resultados da Tabela 6, a concentração ideal de ação das enzimas na farinha de cascas de umbu é de 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por um tempo em reação de 60 minutos, visto que devido ao aumento da curva característica de atividade das enzimas, atingiu seu ponto máximo de extração, representado pelo maior rendimento.

Conforme Uenojo e Pastore (2007) o uso de enzimas de reação aumenta o rendimento da extração e melhora o processamento. Santos e Pietro (2012) constataram em seus experimentos o aumento do rendimento de óleos essenciais realizados com falsa calêndula (*Melampodium divaricatum*) e hortelã (*Mentha spicata*) demonstrando a eficácia da utilização das enzimas, com um aumento médio de 60 % da produção de óleo por *M. divaricatum* e 55 % para a *M. spicata*, em relação à extração sem a aplicação das enzimas.

Considerando todas as técnicas de extrações empregadas nesta pesquisa, o rendimento global variou de 0,04 a 80 %. Estas porcentagens variaram em função dos diferentes solventes utilizados, dos tempos de contato, tensão superficial, temperaturas, pressões e das diferentes técnicas usadas para extração.

A técnica mais eficiente em termos de rendimento global de extração nesta matriz vegetal foi a extração assistida por enzimas na concentração de 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por um tempo em reação de 60 minutos.

Essencialmente na área de extração de compostos bioativos, o rendimento global tão somente não é decisivo para eleger a melhor técnica, é preciso relacionar com a composição dos extratos, caracterizar e avaliar a qualidade do produto extraído.

#### **4.6. Compostos fenólicos totais**

Os valores encontrados de teor de compostos fenólicos totais (TFT) para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos por meio das técnicas de extração à baixa pressão sem uso de enzimas, como Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração com diferentes solventes; e hidrodestilação, estão apresentados na Tabela 7.

O extrato obtido por extração assistida por ultrassom com hexano foi o que apresentou o melhor resultado, fornecendo um valor de 306 mg GAE/g pelo método de Folin-Ciocalteu, diferindo significativamente de todos os demais.

**Tabela 7:** Teor de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE), para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extrações à baixa pressão sem uso de enzimas com diferentes solventes.

Técnica de extração	Solvente	TFT (mg GAE/g) <sup>1</sup>
Soxhlet	Hexano	129 <sup>c</sup> ± 7
	Diclorometano	26 <sup>d</sup> ± 5
	Acetato de etila	24 <sup>d</sup> ± 6
	Etanol	ND <sup>2</sup>
	Água	ND <sup>2</sup>
Assistida por ultrassom	Hexano	306 <sup>a</sup> ± 6
	Diclorometano	12 <sup>e</sup> ± 3
	Acetato de etila	8 <sup>ef</sup> ± 3
	Etanol	ND <sup>2</sup>
	Água	ND <sup>2</sup>
Maceração	Hexano	24 <sup>d</sup> ± 5
	Diclorometano	175 <sup>b</sup> ± 2
	Acetato de etila	10 <sup>ef</sup> ± 2
	Etanol	4 <sup>ef</sup> ± 2
	Água	ND <sup>2</sup>
Hidrodestilação	Água	ND <sup>2</sup>

<sup>1</sup>: Teor de compostos fenólicos totais expresso em equivalentes de ácido gálico. <sup>2</sup>: Não detectado. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Observou-se que os extratos que utilizaram os solventes água e etanol nas extrações Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração, e que apresentaram bons rendimentos, não foram detectados teores de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu para nenhum método, exceto maceração com etanol. Apesar do baixo rendimento encontrado na extração assistida por ultrassom com hexano (1,53 %), o teor de compostos fenólicos totais foi maior do que a maceração com etanol.

O fenômeno de cavitação gerado no processo de extração assistida por ultrassom justifica a liberação e solubilização de compostos presentes nos poros da matriz vegetal, o que não ocorre com a extração em Soxhlet e em maceração, e associado à polaridade do solvente empregado, promove uma melhor extração de compostos fenólicos (MA

et al., 2008). Isto demonstra que os compostos fenólicos nesta matriz possuem maior afinidade por solventes apolares.

Os resultados de TFT, segundo Dorman et al. (2003), dependem da natureza química e estrutura dos compostos fenólicos presentes no extrato.

Ao se comparar os métodos de extração Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração aqui empregados para um mesmo solvente, nota-se que o acetato de etila forneceu os melhores valores de compostos fenólicos quando extraído por Soxhlet, o diclorometano quando extraído por maceração e o hexano quando extraído com ultrassom.

O valor de compostos fenólicos totais do antioxidante sintético BHT (268 mg GAE/g), obtido por Benelli et al. (2010) pode ser utilizado para fins de comparação, ressaltando-se que o extrato obtido com hexano em extração assistida por ultrassom no presente trabalho, teve valor superior ao obtido para este antioxidante comercial.

Com relação ao TFT, Omena et al. (2012) usaram Folin-Ciocalteu e registraram nos extratos etanólicos obtidos de cascas, polpas e sementes secas de umbu, valores de 52,5 , 40,4 e 202,2 mg GAE/g, respectivamente, diferindo dos resultados encontrados na presente pesquisa que usando etanol detectou apenas na técnica de maceração e um valor muito inferior.

Os valores encontrados de TFT para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos por meio da técnica de extração supercrítica estão apresentados na Tabela 8.

O extrato obtido a uma temperatura de 45 °C com pressão de 400 bar foi o que apresentou o melhor resultado de TFT, fornecendo um valor de 30 mg GAE/g pelo método de Folin-Ciocalteu, enquanto o extrato obtido a uma temperatura de 55 °C com pressão de 300 bar forneceu o menor valor, 3 mg GAE/g.

Os resultados do efeito da pressão na taxa de extração a uma temperatura constante demonstraram que os melhores valores de compostos fenólicos foram fornecidos quando empregou-se a maior pressão (400 bar) nas temperaturas constantes de 35, 45 e 55 °C, com diferenças significativas entre eles.

Em geral, um aumento na pressão a temperatura constante causa um aumento na densidade do fluido supercrítico, elevando assim seu poder solvente, além disso, o aumento da pressão pode gerar rupturas na matriz vegetal facilitando a liberação de compostos que não estavam disponíveis anteriormente (CAMPOS et al., 2005).

**Tabela 8:** Teor de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE), para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	TFT (mg GAE/g) <sup>1</sup>
35	200	10 <sup>cd</sup> ± 1
	300	9 <sup>cde</sup> ± 2
	400	24 <sup>b</sup> ± 1
45	200	14 <sup>c</sup> ± 2
	300	11 <sup>cd</sup> ± 1
	400	30 <sup>a</sup> ± 3
55	200	7 <sup>de</sup> ± 3
	300	3 <sup>e</sup> ± 1
	400	11 <sup>cd</sup> ± 1

<sup>1</sup>: Teor de compostos fenólicos totais expresso em equivalentes de ácido gálico. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados do efeito da temperatura na taxa de extração a uma pressão constante demonstraram que os melhores valores de compostos fenólicos foram fornecidos quando empregou-se a temperatura de 45 °C nas pressões constantes de 200, 300 e 400 bar, com diferenças significativas entre eles.

O conteúdo total de fenólicos diminuiu com o aumento da temperatura para 55 °C nas pressões constantes de 200, 300 e 400 bar, possivelmente pela degradação térmica de parte destes compostos.

Os valores encontrados de TFT para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos por meio da técnica de extração assistida por enzimas estão apresentados na Tabela 9.

Os resultados do efeito do tempo na taxa de extração a uma concentração constante demonstraram que para compostos fenólicos são inversamente proporcionais, ou seja, à medida que se aumentou o tempo diminuíram-se os valores. Demonstrando que os melhores valores de compostos fenólicos foram fornecidos quando se empregou o menor tempo em todas as concentrações testadas, inclusive no controle (sem enzimas).

**Tabela 9:** Teor de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE), para os extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.

Concentração (mL.100 kg <sup>-1</sup> )	Tempo (min)	TFT (mg GAE/g) <sup>1</sup>
0	30	15 <sup>a</sup> ± 4
	60	9 <sup>abcd</sup> ± 2
	90	4,8 <sup>cd</sup> ± 0,3
2	30	15 <sup>ab</sup> ± 2
	60	6 <sup>bcd</sup> ± 2
	90	4,3 <sup>cd</sup> ± 0,9
4	30	12 <sup>abc</sup> ± 7
	60	8 <sup>abcd</sup> ± 2
	90	0,3 <sup>d</sup> ± 0,3
6	30	11 <sup>abc</sup> ± 3
	60	7 <sup>abcd</sup> ± 4
	90	2,2 <sup>d</sup> ± 0,7

<sup>1</sup>: Teor de compostos fenólicos totais expresso em equivalentes de ácido gálico. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Essa diminuição dos compostos fenólicos atribuída ao aumento do tempo de extração pode ser devido às reações oxidativas também liberadas (TOOR; SAVAGE, 2006), à ligação dos polifenóis com outros compostos, como proteínas, ou a alterações na estrutura química dos polifenóis (QU; PAN; MA, 2010).

Levando-se em consideração a combinação do rendimento (Tabela 6) com o teor de fenólicos totais, verifica-se que o extrato obtido em 30 minutos de reação na concentração de 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> foi o que apresentou a melhor eficiência.

Teor de fenólicos totais com valor moderado (44,6 mg de GAE/100 g) foram determinados por Almeida et al. (2011) em umbu (polpas e cascas) e Rufino et al. (2010) analisaram polpas e cascas frescas e secas (liofilizadas) de umbu, encontraram valores de 90,4 e 742 mg de GAE/100 g, respectivamente, classificaram como fruta com baixo conteúdo de polifenóis.

Considerando todas as técnicas de extração empregadas nesta pesquisa, o teor de fenólicos totais variou de 0,3 a 306 mg de GAE/g. A extração assistida por ultrassom com hexano foi a técnica mais eficiente,



pois proporcionou extratos com maior teor de fenólicos totais nesta matriz vegetal, possivelmente devido à cavitação gerada associada à polaridade do solvente.

#### 4.7. Determinação de atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzima avaliada pelo método do sequestro de radicais livres do DPPH estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10:** Atividade antioxidante (% AA) dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, determinada pelo método DPPH.

Técnica de extração	Solvente	% AA (500 µg/mL)	EC <sub>50</sub> (µg/mL)
Soxhlet	Hex.	41 <sup>de</sup> ± 1	607 <sup>def</sup> ± 14
	Dic.	37 <sup>de</sup> ± 5	707 <sup>def</sup> ± 111
	Ace.	26 <sup>f</sup> ± 1	947 <sup>de</sup> ± 57
	Eta.	37 <sup>de</sup> ± 2	1001 <sup>d</sup> ± 67
	Água	11 <sup>g</sup> ± 1	3251 <sup>a</sup> ± 462
Assistida por ultrassom	Hex.	77 <sup>a</sup> ± 1	248 <sup>fg</sup> ± 4
	Dic.	39 <sup>de</sup> ± 5	663 <sup>def</sup> ± 75
	Ace.	35 <sup>c</sup> ± 0,2	702 <sup>def</sup> ± 6
	Eta.	16 <sup>g</sup> ± 1	1848 <sup>c</sup> ± 232
	Água	12 <sup>g</sup> ± 1	2582 <sup>b</sup> ± 233
Maceração	Hex.	42 <sup>d</sup> ± 4	575 <sup>def</sup> ± 48
	Dic.	69 <sup>b</sup> ± 2	277 <sup>fg</sup> ± 14
	Ace.	36 <sup>de</sup> ± 1	682 <sup>def</sup> ± 25
	Eta.	50 <sup>c</sup> ± 1	512 <sup>ef</sup> ± 6
	Água	13 <sup>g</sup> ± 1	2231 <sup>bc</sup> ± 136
Hidrodestilação	Água	2 <sup>h</sup> ± 2	ND <sup>1</sup>

Hex.: Hexano; Dic.: Diclorometano; Ace.: Acetato de etila; Eta.: Etanol; EC<sub>50</sub>: Concentração onde o composto apresenta 50 % da sua atividade máxima. <sup>1</sup>: Não detectado. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

O extrato obtido por extração assistida por ultrassom com hexano foi o que apresentou a maior atividade antioxidante, fornecendo um valor de 77 % e menor concentração efetiva ( $EC_{50}$ ) de 248  $\mu\text{g/mL}$ . Quanto menor o valor de concentração efetiva ( $EC_{50}$ ), maior a atividade antioxidante do extrato, já que este valor representa a quantidade de extrato necessária para reduzir em 50% a atividade do radical livre.

O valor de  $EC_{50}$  para o extrato obtido em assistida por ultrassom com hexano (247,70  $\mu\text{g/mL}$ ) no presente trabalho foi melhor que o antioxidante sintético BHT (261  $\mu\text{g/mL}$ ) apresentado por Benelli et al. (2010).

Segundo Campos et al. (2008), valores de  $EC_{50}$  menores que 250  $\mu\text{g/mL}$  são considerados potenciais como composto antioxidante.

Comparando os dados da Tabela 7, que apresenta o teor de compostos fenólicos totais, e a Tabela 10, que apresenta os dados de atividade antioxidante pelo DPPH para farinha de cascas de umbu, obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, é possível observar que os extratos com maior valor de atividade antioxidante foram aqueles que apresentaram também maiores teores de compostos fenólicos totais.

Na avaliação da atividade antioxidante pelo DPPH obtida para os extratos, os solventes de polaridades baixa a intermediária obtiveram os melhores resultados.

A desidratação dos tecidos vegetais, como o pré-tratamento aplicado às cascas de umbu neste estudo, segundo Monrad et al. (2010), pode prejudicar a extração de compostos de interesse, pois as pectinas podem formar ligações cruzadas e, conseqüentemente, bolsões hidrofóbicos capazes de encapsular e complexar alguns desses compostos.

Nos processos de extração em Soxhlet o percentual de atividade antioxidante dos extratos diminuiu e a  $EC_{50}$  aumentou quando este foi comparado com a extração assistida por ultrassom e maceração com os mesmos solventes, exceto para etanol em extração assistida por ultrassom. Possivelmente, a utilização de aquecimento do solvente até a ebulição na extração com Soxhlet pode ter degradado compostos responsáveis pela atividade antioxidante.

Ao se comparar os métodos de extração Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração empregados para um mesmo solvente, nota-se que o diclorometano e o etanol forneceram as melhores atividades antioxidantes, bem como os menores valores de  $EC_{50}$  quando extraído por maceração, diferindo estatisticamente dos demais, enquanto o

hexano forneceu a melhor atividade antioxidante e menor valor de  $EC_{50}$  quando empregou extração assistida por ultrassom.

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica avaliada pelo método do sequestro de radicais livres do DPPH estão apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11:** Atividade antioxidante (% AA) dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, determinada pelo método DPPH.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	% AA (500 µg/mL)	$EC_{50}$ (µg/mL)
35	200	$30^f \pm 1$	$803^a \pm 28$
	300	$40^e \pm 1$	$615^b \pm 15$
	400	$40^e \pm 1$	$626^b \pm 14$
45	200	$75^a \pm 1$	$309^f \pm 4$
	300	$49^c \pm 1$	$496^d \pm 6$
	400	$63^b \pm 1$	$378^c \pm 1$
55	200	$51^c \pm 1$	$495^d \pm 16$
	300	$45^d \pm 1$	$568^c \pm 8$
	400	$46^d \pm 1$	$550^c \pm 4$

$EC_{50}$ : Concentração onde o composto apresenta 50 % da sua atividade máxima. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

O extrato obtido a 45 °C em 200 bar foi o que apresentou a maior atividade antioxidante, fornecendo um valor de 75 % e menor concentração efetiva ( $EC_{50}$ ) 309 µg/mL, diferindo significativamente de todos os demais.

Os resultados do efeito da temperatura na taxa de extração a uma pressão constante demonstraram que em todas as pressões testadas (200, 300 e 400 bar), as atividades antioxidantes pelo DPPH dos extratos obtidos por ESC foram maiores e as concentrações efetivas conseqüentemente menores na temperatura de 45 °C, diferindo estatisticamente das demais. De acordo com Hu, Hu e Xu (2005), quando ocorre a diminuição desta atividade com o aumento da temperatura, há indícios de que os compostos responsáveis pela atividade antioxidante podem ter sofrido degradação térmica com o aumento da temperatura.

Os resultados do efeito da pressão na taxa de extração a uma temperatura constante demonstraram que nas temperaturas de 45 e 55 °C à pressão de 200 bar, as atividades antioxidantes pelo DPPH dos extratos obtidos por ESC foram maiores e as concentrações efetivas consequentemente menores, diferindo estatisticamente das demais. Conforme Benelli et al. (2010) este comportamento pode estar relacionado aos diferentes compostos extraídos em cada uma das condições experimentais, fazendo com que, também, ocorram variações na atividade antioxidante.

Existe uma grande variação entre os diferentes compostos na sua efetividade como antioxidantes. A atividade antioxidante pelo DPPH dos extratos testados de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica não está diretamente associada ao teor de compostos fenólicos totais dos extratos também obtidos em ESC, uma vez que os resultados do teor de fenólicos totais foram mais satisfatórios para os extratos obtidos a 45 °C em 400 bar, enquanto as melhores atividades antioxidantes foram verificadas para os extratos obtidos a 45 °C em 200 bar. A atividade antioxidante pode ser atribuída não somente à presença de compostos fenólicos, mas também de outros compostos como carotenoides, antocianinas e ácidos orgânicos.

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos com a extração assistida por enzimas avaliada pelo método do sequestro de radicais livres do DPPH estão apresentados na Tabela 12.

Os resultados do efeito do tempo de reação na taxa de extração a uma concentração constante, demonstraram que na concentração de 2 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 30 minutos o valor do percentual de atividade antioxidante foi o maior, diferindo estatisticamente dos tempos em reação de 60 e 90 minutos. Enquanto na concentração de 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 90 minutos o valor do % AA foi o menor e a concentração efetiva consequentemente maior, diferindo estatisticamente dos tempos em reação de 30 e 60 minutos.

Os resultados confirmam, de acordo com Alberti et al. (2014), que à medida que se aumentou o tempo em reação diminuíram-se os valores (% AA), e consequentemente as concentrações efetivas aumentaram. Isso indica que deve-se trabalhar com os menores tempos de extração, diminuindo possíveis alterações químicas durante a extração além do custo do processo.

**Tabela 12:** Atividade antioxidante (% AA) dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas, determinada pelo método DPPH.

Concentração (mL.100 kg <sup>-1</sup> )	Tempo (min)	% AA (500 µg/mL)	EC <sub>50</sub> (µg/mL)
0	30	30 <sup>abcdef</sup> ± 5	790 <sup>bc</sup> ± 90
	60	29 <sup>bcdefg</sup> ± 1	874 <sup>abc</sup> ± 36
	90	29 <sup>cdefg</sup> ± 2	895 <sup>abc</sup> ± 78
2	30	37 <sup>abc</sup> ± 6	689 <sup>c</sup> ± 97
	60	21 <sup>fg</sup> ± 7	1387 <sup>a</sup> ± 621
	90	26 <sup>efg</sup> ± 3	988 <sup>abc</sup> ± 113
4	30	39 <sup>a</sup> ± 2	658 <sup>c</sup> ± 28
	60	39 <sup>ab</sup> ± 2	664 <sup>c</sup> ± 34
	90	20 <sup>g</sup> ± 2	1255 <sup>ab</sup> ± 125
6	30	36 <sup>abcd</sup> ± 1	688 <sup>c</sup> ± 26
	60	27 <sup>defg</sup> ± 1	914 <sup>abc</sup> ± 22
	90	31 <sup>abcde</sup> ± 1	831 <sup>abc</sup> ± 18

EC<sub>50</sub>: Concentração onde o composto apresenta 50 % da sua atividade máxima. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

A atividade antioxidante pelo DPPH dos extratos de farinha de cascas de umbu, obtidos em extração assistida por enzimas pode não estar diretamente associada ao teor de compostos fenólicos totais dos extratos também obtidos pela mesma técnica, evidenciando mais uma vez a grande variação entre os diferentes compostos na sua efetividade como antioxidantes. Demonstrando que a atividade antioxidante, de acordo com Bastos et al. (2007), não depende somente da presença dos compostos fenólicos, mas também da natureza destes e da presença de outros compostos, que podem contribuir para o efeito antioxidante.

Considerando todas as técnicas de extração empregadas neste estudo, as atividades antioxidantes pelo DPPH variaram de 2 a 77 % na maior concentração de extrato testada (500 µg/mL) e as concentrações efetivas (EC<sub>50</sub>) variaram de 248 a 3251 µg/mL.

Apesar da variação, os valores encontrados no presente trabalho são consistentes com os resultados relatados na literatura. Omena et al. (2012) analisaram o umbu separando suas partes (cascas, polpas e sementes) secas e registraram nos extratos etanólicos obtidos,

percentuais de atividade sequestradora de radicais DPPH em 30 minutos de  $16,10 \pm 0,88$  % (polpas),  $19,71 \pm 1,47$  % (cascas) e  $20,78 \pm 0,34$  % (sementes). Já o valor de  $EC_{50}$  mais promissor foi determinado para o extrato das sementes de umbu com  $173,37 \mu\text{g/mL}$ .

Almeida et al. (2011) estudaram polpas e cascas frescas de umbu e expressaram valores de atividade antioxidante determinados pelo DPPH em equivalente ao Trolox de  $0,70 \pm 0,16 \mu\text{M/g}$  de massa fresca e em equivalente à Vitamina C de  $8,85 \pm 2,06 \text{ mg/100g}$  de massa fresca.

Os valores de  $EC_{50}$  do presente trabalho foram melhores do que os que Rufino et al. (2010) encontraram na pesquisa com umbu polpas e cascas frescas ( $7074 \pm 218 \text{ g/g}$ ) e secas liofilizadas ( $933 \pm 109 \text{ g/g}$ ).

Na determinação de atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH a extração assistida por ultrassom com hexano foi a técnica mais eficiente, pois proporcionou extratos com maior percentual de atividade antioxidante e menor concentração efetiva nesta matriz vegetal.

#### **4.8. Determinação da atividade antioxidante pelo método de inibição do radical ABTS**

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzima avaliada pelo método do sequestro de radicais livres do ABTS estão apresentados na Tabela 13.

O extrato obtido por extração assistida por ultrassom com hexano foi o que apresentou a maior inibição (85 %) e maior atividade antioxidante equivalente ao Trolox ( $1147 \mu\text{M/g}$  extrato), apresentando diferença significativa de todos os demais.

Comparando os dados da Tabela 7, que apresenta o teor de compostos fenólicos totais, e a Tabela 13, que apresenta os dados de atividade antioxidante pelo ABTS para farinha de cascas de umbu, obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, é possível observar que os extratos com maior valor de atividade antioxidante foram aqueles que apresentam também maiores teores de compostos fenólicos totais.

Na avaliação da atividade antioxidante obtida nos extratos pelo ABTS, os solventes de polaridade baixa a intermediária (hexano, diclorometano e acetato de etila) obtiveram os melhores resultados nos métodos de extração (Soxhlet, assistida por ultrassom ou maceração),

apresentando diferenças significativas quando comparados com os solventes de maior polaridade (etanol e água).

**Tabela 13:** Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, determinada pelo método ABTS.

Técnica de extração	Solvente	% Inibição	TEAC <sup>1</sup> (µM/g extrato)
Soxhlet	Hex.	23 <sup>bc</sup> ± 3	301 <sup>bc</sup> ± 43
	Dic.	29 <sup>b</sup> ± 2	376 <sup>b</sup> ± 21
	Ace.	25 <sup>bc</sup> ± 1	326 <sup>bc</sup> ± 10
	Eta.	7 <sup>g</sup> ± 1	70 <sup>g</sup> ± 12
	Água	9 <sup>fg</sup> ± 1	95 <sup>fg</sup> ± 15
Assistida por ultrassom	Hex.	85 <sup>a</sup> ± 5	1147 <sup>a</sup> ± 74
	Dic.	22 <sup>bcd</sup> ± 0,3	285 <sup>bcd</sup> ± 3
	Ace.	24 <sup>bc</sup> ± 3	308 <sup>bc</sup> ± 45
	Eta.	12 <sup>efg</sup> ± 3	146 <sup>efg</sup> ± 45
	Água	11 <sup>fg</sup> ± 4	129 <sup>fg</sup> ± 49
Maceração	Hex.	20 <sup>cde</sup> ± 4	248 <sup>cde</sup> ± 61
	Dic.	20 <sup>cde</sup> ± 1	256 <sup>cde</sup> ± 15
	Ace.	15 <sup>def</sup> ± 4	186 <sup>def</sup> ± 55
	Eta.	8 <sup>fg</sup> ± 1	84 <sup>fg</sup> ± 13
	Água	11 <sup>fg</sup> ± 2	132 <sup>fg</sup> ± 32
Hidrodestilação	Água	8 <sup>fg</sup> ± 1	84 <sup>fg</sup> ± 12

<sup>1</sup>: Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Ao se comparar os métodos de extração Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração aqui empregados para um mesmo solvente, observou-se que com hexano, o método extração assistida por ultrassom interferiu positivamente nos resultados, diferenciando-se significativamente dos demais.

Os resultados da atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, avaliada pelo método do sequestro de radicais livres do ABTS estão apresentados na Tabela 14.

**Tabela 14:** Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, determinada pelo método ABTS.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	% Inibição	TEAC <sup>1</sup> (µM/g extrato)
35	200	24 <sup>abc</sup> ± 1	301 <sup>abc</sup> ± 18
	300	15 <sup>cd</sup> ± 1	179 <sup>cd</sup> ± 8
	400	31 <sup>a</sup> ± 8	402 <sup>a</sup> ± 116
45	200	16 <sup>bcd</sup> ± 1	200 <sup>bcd</sup> ± 16
	300	25 <sup>ab</sup> ± 3	317 <sup>ab</sup> ± 36
	400	22 <sup>abcd</sup> ± 1	281 <sup>abcd</sup> ± 19
55	200	20 <sup>bcd</sup> ± 1	259 <sup>bcd</sup> ± 8
	300	21 <sup>bcd</sup> ± 2	271 <sup>bcd</sup> ± 29
	400	14 <sup>d</sup> ± 1	176 <sup>d</sup> ± 10

<sup>1</sup>: Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados do efeito da temperatura na taxa de extração a uma pressão constante demonstraram que na pressão de 300 bar à medida que a temperatura aumentou de 35 para 45 °C, a atividade antioxidante pelo ABTS dos extratos obtidos melhorou, com diferença significativa.

Os resultados do efeito da pressão na taxa de extração a uma temperatura constante demonstraram que na temperatura de 35 °C à medida que a aumentou pressão de 300 bar para 400 bar, a atividade antioxidante pelo ABTS dos extratos obtidos melhorou, com diferença significativa. Isto sugere que a pressão de operação quando se empregou a menor temperatura parece ter exercido influência nos resultados, visto que os valores obtidos na maior pressão foram maiores do que os valores obtidos nas pressões menores.

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos com extração assistida por enzimas, avaliada pelo método do sequestro de radicais livres do ABTS estão apresentados Na Tabela 15.

Os resultados para inibição e atividade antioxidante pelo ABTS, do efeito do tempo na taxa de extração a uma concentração constante, demonstraram que no controle à medida que foi aumentado o tempo de 30 para 60 minutos aumentaram-se os valores e na concentração de 2 e 4 mL.100 kg<sup>-1</sup>, quando aumentou o tempo de 60 para 90 minutos ocorreu



o contrário ou seja diminuíram-se os valores, diferindo significativamente.

**Tabela 15:** Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas, determinada pelo método ABTS.

Concentração (mL.100 kg <sup>-1</sup> )	Tempo (min)	% Inibição	TEAC <sup>1</sup> (µM/g extrato)
0	30	7 <sup>cd</sup> ± 0,3	73 <sup>cd</sup> ± 4
	60	10 <sup>ab</sup> ± 0,4	116 <sup>ab</sup> ± 6
	90	10 <sup>ab</sup> ± 1	117 <sup>ab</sup> ± 8
2	30	9 <sup>ab</sup> ± 0,5	105 <sup>ab</sup> ± 7
	60	9 <sup>bc</sup> ± 1	102 <sup>bc</sup> ± 11
	90	7 <sup>d</sup> ± 1	68 <sup>d</sup> ± 8
4	30	10 <sup>ab</sup> ± 1	113 <sup>ab</sup> ± 8
	60	11 <sup>a</sup> ± 1	132 <sup>a</sup> ± 10
	90	6 <sup>d</sup> ± 0,2	66 <sup>d</sup> ± 3
6	30	10 <sup>ab</sup> ± 2	119 <sup>ab</sup> ± 24
	60	10 <sup>ab</sup> ± 0,4	120 <sup>ab</sup> ± 5
	90	9 <sup>ab</sup> ± 1	107 <sup>ab</sup> ± 10

<sup>1</sup>: Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados do efeito das concentrações na taxa de extração em um tempo constante demonstraram que no tempo de 30 minutos a inibição e atividade antioxidante aumentaram à medida que se aumentaram as concentrações, apresentando diferença significativa do tratamento sem enzimas para os com adição de enzimas. No tempo de 60 minutos à medida que aumentou a concentração de 2 e 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> aumentaram-se os valores, diferindo significativamente.

Considerando todas as técnicas de extração empregadas nesta pesquisa, as inibições do radical ABTS variaram de 6 a 85 % e as atividades antioxidantes equivalentes ao trolox variaram de 66 a 1147 µM/g extrato.

Apesar da variação, os valores encontrados no presente trabalho são consistentes com os resultados relatados na literatura. Omena et al. (2012) registraram as atividades antioxidantes equivalentes ao trolox de 0,22 ± 0,05 mM/g extrato (polpas), 0,53 ± 0,01 mM/g extrato (cascas) e 2,71 ± 0,35 mM/g extrato (sementes) de umbu.

Almeida et al. (2011) expressaram valores de atividade antioxidante determinados pelo ABTS em equivalente ao Trolox de  $1,07 \mu\text{M/g}$  e em equivalente à Vitamina C de  $18,49 \pm 3,53 \text{ mg/100g}$ , porém foram em massa fresca de umbu (polpas e cascas).

Os valores de atividade antioxidante determinados pelo ABTS em equivalente ao Trolox do presente trabalho foram melhores do que os que Rufino et al. (2010) encontraram em umbu polpas e cascas frescas ( $6,3 \pm 0,2 \mu\text{M/g}$ ) e secas liofilizadas ( $77,0 \pm 15,4 \mu\text{M/g}$ ). Satpathy, Tyagi e Gupta (2011) relataram valores de atividade antioxidante determinados pelo ABTS em equivalente ao Trolox de 0,68 a 0,83 em 100 mg do extrato de *Spondias pinnata* Kurz.

Na determinação de atividade antioxidante pelo método de inibição do radical ABTS a técnica mais eficiente nesta matriz vegetal foi também a extração assistida por ultrassom com hexano, pois proporcionou extratos com maior percentual de inibição e atividade antioxidante.

#### **4.9. Determinação da atividade antioxidante por meio do método de descoloração do sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico**

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzima avaliada pelo método de descoloração do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico estão apresentados na Tabela 16.

O extrato obtido por extração assistida por ultrassom com hexano mais uma vez foi o que apresentou o maior percentual (84 %), apresentando diferença significativa de todos os demais com relação às técnicas de extração e os solventes utilizados para atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico,

Comparando os dados da Tabela 7, que apresenta o teor de compostos fenólicos totais, e a Tabela 16, que apresenta o potencial antioxidante por meio de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico dos extratos de farinha de cascas de umbu, obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, é possível observar que os extratos com maior valor de atividade antioxidante foram aqueles que apresentam também maiores teores de compostos fenólicos totais.

**Tabela 16:** Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, determinada pelo método de descoloração do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Técnica de extração	Solvente	% AA <sup>1</sup>
Soxhlet	Hexano	81 <sup>b</sup> ± 1
	Diclorometano	78 <sup>c</sup> ± 0,2
	Acetato de etila	77 <sup>c</sup> ± 1
	Etanol	17 <sup>i</sup> ± 0,4
	Água	51 <sup>g</sup> ± 0,2
Assistida por ultrassom	Hexano	84 <sup>a</sup> ± 0,4
	Diclorometano	56 <sup>f</sup> ± 1
	Acetato de etila	53 <sup>g</sup> ± 0,2
	Etanol	16 <sup>i</sup> ± 0,4
Maceração	Água	51 <sup>g</sup> ± 1
	Hexano	64 <sup>e</sup> ± 0,1
	Diclorometano	69 <sup>d</sup> ± 2
	Acetato de etila	68 <sup>d</sup> ± 1
	Etanol	42 <sup>h</sup> ± 0,3
Hidrodestilação	Água	52 <sup>g</sup> ± 1
	Água	10 <sup>j</sup> ± 0,4

<sup>1</sup>: Porcentagens de atividade antioxidante após 120 minutos de reação. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Ao se comparar os métodos de extração Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração aqui empregados para um mesmo solvente, nota-se que o acetato de etila e o diclorometano forneceram as melhores atividades antioxidantes, quando extraídos por Soxhlet; o hexano quando extraído por extração assistida por ultrassom e o etanol quando extraídos por maceração, diferindo significativamente dos demais, indicando que cada solvente e cada técnica extrai tipos e quantidades de compostos diferentes.

Na avaliação da atividade antioxidante pela descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico obtida nos extratos pelas técnicas de extração (Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração), os melhores resultados foram obtidos com os solventes de baixa polaridade, apresentando diferença significativa de todos os demais.

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, avaliada pelo método

de descoloração do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico estão apresentados na Tabela 17.

**Tabela 17:** Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica, determinada pelo método de descoloração do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	% AA <sup>1</sup>
35	200	170 <sup>f</sup> ± 6
	300	240 <sup>cd</sup> ± 7
	400	224 <sup>de</sup> ± 27
45	200	196 <sup>ef</sup> ± 15
	300	272 <sup>ab</sup> ± 2
	400	245 <sup>bcd</sup> ± 4
55	200	266 <sup>abc</sup> ± 2
	300	242 <sup>bcd</sup> ± 7
	400	278 <sup>a</sup> ± 0

<sup>1</sup>: Porcentagens de atividade antioxidante após 120 minutos de reação. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Todos os valores de atividade antioxidante foram superiores ao determinado por Benelli et al. (2010), também na atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico para o antioxidante sintético BHT, que foi de  $113 \pm 7$  %, demonstrando grande capacidade em neutralizar ou retardar o efeito dos radicais liberados a 50 °C, como o linoleato que é produzido pela esterificação do ácido linoleico.

De acordo com Hassimoto, Genovese e Lajolo (2005), que estabeleceu níveis de atividade antioxidante, pode-se classificar os resultados encontrados em ESC no presente trabalho como de nível alto (>70 %) de inibição da oxidação.

Os resultados do efeito da temperatura na taxa de extração a uma pressão constante demonstraram que nas pressões testadas de 200 e 400 bar à medida que aumentaram as temperaturas de 45 para 55 °C também aumentaram-se os valores das atividades antioxidantes pela descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico dos extratos obtidos por ESC, diferindo significativamente dos demais. Ao passo que na pressão testada de 300 bar observou-se um aumento dos valores com diferença significativa apenas quando a temperatura passou de 35 para

45 °C.

De acordo com Kang et al. (2006) este resultado é bastante útil no processamento de alimentos, pois sugere que o aquecimento da solução, durante a realização do ensaio de atividade antioxidante ou a elevação da temperatura até 55 °C durante o processo de extração, não causa a redução da atividade antioxidante.

Os resultados do efeito da pressão na taxa de extração a uma temperatura constante demonstraram que nas temperaturas de 35 e 45 °C observou-se um aumento dos valores das atividades antioxidantes com diferença significativa, quando a pressão passou de 200 para 300 bar. Quando aumentou a pressão para 400 bar não houve diferenças significativas, assim como na temperatura de 55 °C em nenhuma das pressões testadas.

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos com extração assistida por enzimas, avaliada pelo método de descoloração do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico estão apresentados na Tabela 18.

**Tabela 18:** Atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos com extração assistida por enzimas, determinada pelo método de descoloração do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Concentração (mL.100 kg <sup>-1</sup> )	Tempo (min)	% AA <sup>1</sup>
0	30	8 <sup>f</sup> ± 2
	60	19 <sup>d</sup> ± 1
	90	31 <sup>b</sup> ± 2
2	30	5 <sup>f</sup> ± 1
	60	22 <sup>cd</sup> ± 1
	90	34 <sup>b</sup> ± 0,4
4	30	13 <sup>e</sup> ± 1
	60	25 <sup>c</sup> ± 0,2
	90	41 <sup>a</sup> ± 2
6	30	15 <sup>e</sup> ± 1
	60	31 <sup>b</sup> ± 0,4
	90	40 <sup>a</sup> ± 1

<sup>1</sup>: Porcentagens de atividade antioxidante após 120 minutos de reação. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados para atividade antioxidante, após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, do efeito do tempo de reação na taxa de extração a uma concentração constante, demonstraram que em todas as concentrações, inclusive no controle, à medida que se aumentou o tempo também se aumentaram os valores, apresentando diferenças significativas entre eles, compreendendo, de acordo com Fonsêca (2005), que quanto maior for o tempo de contato maior será o fluxo de difusão do solvente através da parede celular e a concentração de ativos aumentará.

Os resultados do efeito das concentrações na taxa de extração em um tempo constante demonstraram que nos tempos de 30 e 90 minutos observaram-se aumento dos valores com diferença significativa, quando a concentração passou de 2 para 4 mL.100 kg<sup>-1</sup>. Quando aumentou a concentração para 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> não houve diferenças significativas.

Ao passo que no tempo de reação testado por 60 minutos observou-se um aumento dos valores não significativos diferindo dos demais, apenas quando a concentração testada foi de 6 mL.100 kg<sup>-1</sup>.

Considerando todas as técnicas de extração empregadas neste estudo, as atividades antioxidantes após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico variaram de 5 a 278 %.

Apesar da variação, os valores encontrados no presente trabalho são consistentes com os resultados relatados na literatura. Rufino et al. (2010) encontraram valores pelo  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico de  $63,4 \pm 8,4$  e  $79,3 \pm 14,6$  % de matéria fresca e seca (liofilizadas) de umbu (polpas e cascas), respectivamente.

Silva et al. (2012) relataram valores pelo  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico de 76,65 a 97,42 % do extrato de cajá (*Spondias mombin* L.), semelhante aos resultados relatados também por Rufino et al. (2010) em estudos com polpa de cajá (92,7%). Por outro lado, Silva et al (2011), em estudos com frutos de diferentes genótipos do híbrido umbu-cajá, relatou valores de 60,93% de inibição da oxidação.

A extração supercrítica quando empregou a temperatura de 55 °C em uma pressão de 400 bar foi a técnica mais eficiente em termos de atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico nesta matriz vegetal.

#### **4.10. Análise de componentes principais (ACP) do tipo “Biplot”**

A análise de componentes principais dos extratos de farinha de

cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzima foi aplicada nos rendimentos, compostos fenólicos e atividade antioxidante analisados, em função dos tratamentos (variável suplementar), resultando em 5 componentes principais. As componentes 1 e 2 (PC1 e PC2, respectivamente) explicaram 87,47 % da variância obtida no experimento, a PC1 explicou 70,14 % e a PC2 17,33 %.

Os fatores de análises estão apresentados na Tabela 19, e revelaram que as variáveis com maior contribuição para a separação dos tratamentos das extrações à baixa pressão sem uso de enzima (com loading > 0,70) estão na PC1 e foram: rendimento (loading negativo), teor de fenólicos totais (TFT), atividade antioxidante pelo DPPH (DPPH), atividade antioxidante pelo ABTS (ABTS) e atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (BETA).

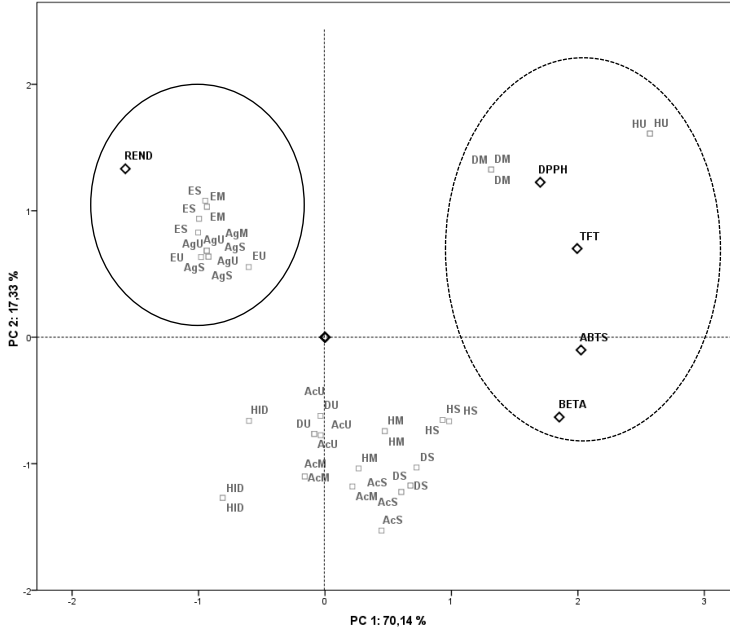
**Tabela 19:** Correlações (loadings) dos rendimentos, fenólicos e atividades antioxidantes das extrações à baixa pressão sem uso de enzimas nas componentes principais 1 e 2.

Variáveis	Componente	
	PC1	PC2
Rendimentos	<b>-0,719</b>	0,607
TFT <sup>1</sup>	<b>0,908</b>	0,319
DPPH <sup>2</sup>	<b>0,775</b>	0,558
ABTS <sup>3</sup>	<b>0,922</b>	-0,046
BETA <sup>4</sup>	<b>0,844</b>	-0,288
Tratamentos de extrações*	-0,081	0,467
<i>Eigenvalue</i>	3,507	0,866
% Variância	70,14	17,33
% Variância acumulada	70,14	87,47

<sup>1</sup>teor de fenólicos totais; <sup>2</sup>atividade antioxidante pelo DPPH; <sup>3</sup>atividade antioxidante pelo ABTS; <sup>4</sup>atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico; \*Variável suplementar.

A componente PC1 com um maior peso de variância explicada (70,14 %) separou os tratamentos das extrações à baixa pressão sem uso de enzimas em dois grupos distintos (Figura 18).

**Figura 18:** “Biplot” da separação dos tratamentos de extrações à baixa pressão sem uso de enzimas em função das variáveis de rendimento, compostos fenólicos e atividades antioxidantes, nas componentes principais.



Um grupo, as extrações realizadas com o solvente hexano por meio da técnica extração assistida por ultrassom (HU) e com o solvente diclorometano por meio da técnica maceração (DM), influenciado principalmente pelas correlações positivas entre estas extrações e o teor de fenólicos totais (TFT), e as atividades antioxidantes medidas pelos métodos DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno (DPPH, ABTS e BETA) e pela correlação negativa com o rendimento.

E o outro grupo, as extrações realizadas com os solventes água e etanol por meio das técnicas Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração (AgS, AgU, AgM, ES, EU, EM, respectivamente), influenciado principalmente pela correlação negativa com o rendimento.

Com base nas separações obtidas fica evidenciado que os solventes hexano em ultrassom e diclorometano em maceração contribuíram para uma maior extração de compostos fenólicos e maiores atividades antioxidantes dos extratos de farinha de cascas de umbu, enquanto os solventes água e etanol independente da técnica empregada



foram os fatores que menos contribuíram, apesar do bom rendimento.

A análise de componentes principais conseguiu separar bem os extratos obtidos com solventes de baixa polaridade dos de alta, fornecendo uma visão geral sobre o efeito da polaridade na extração de compostos bioativos da casca de umbu.

A análise de componentes principais dos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica foi aplicada nos rendimentos, compostos fenólicos e atividade antioxidante analisados, em função dos tratamentos (variável suplementar), resultando em 5 componentes principais. As componentes 1 e 2 (PC1 e PC2, respectivamente) explicaram 86,51 % da variância obtida no experimento, a PC1 explicou 57,81 % e a PC2 28,70 %.

Os fatores de análises estão apresentados na Tabela 20, e revelaram que as variáveis com maior contribuição para a separação dos tratamentos das extrações supercríticas (com loading > 0,70) na PC1 foram: rendimento, atividade antioxidante pelo DPPH (DPPH) e atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (BETA). Na PC2 as variáveis que mais contribuíram na separação (loading > 0,70) foram: teor de fenólicos totais (TFT) e atividade antioxidante pelo ABTS (ABTS).

**Tabela 20:** Correlações (loadings) dos rendimentos, fenólicos e atividades antioxidantes das extrações supercríticas nas componentes principais 1 e 2.

Variáveis	Componente	
	PC1	PC2
Rendimentos	<b>0,981</b>	0,001
TFT <sup>1</sup>	0,235	<b>0,851</b>
DPPH <sup>2</sup>	<b>0,981</b>	-0,034
ABTS <sup>3</sup>	-0,282	<b>0,839</b>
BETA <sup>4</sup>	<b>0,911</b>	0,076
Tratamentos de extrações*	0,939	0,069
<i>Eigenvalue</i>	2,890	1,435
% Variância	57,81	28,70
% Variância acumulada	57,81	86,51

<sup>1</sup>teor de fenólicos totais; <sup>2</sup>atividade antioxidante pelo DPPH;

<sup>3</sup>atividade antioxidante pelo ABTS; <sup>4</sup>atividade antioxidante

após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico; \*Variável suplementar.



nos rendimentos, compostos fenólicos e atividade antioxidante analisados, em função dos tratamentos (variável suplementar), resultando em 5 componentes principais. As componentes 1 e 2 (PC1 e PC2, respectivamente) explicaram 80,70 % da variância obtida no experimento, a PC1 explicou 48,53 % e a PC2 32,17 %.

Os fatores de análises estão apresentados na Tabela 21 e revelaram que as variáveis com maior contribuição para a separação dos tratamentos das extrações assistidas por enzimas (com loading > 0,70) na PC1 foram: teor de fenólicos totais (TFT), atividade antioxidante pelo DPPH (DPPH) e atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (BETA) (loading negativo). Na PC2 as variáveis que mais contribuíram na separação (loading > 0,70) foram: rendimento e atividade antioxidante pelo ABTS (ABTS).

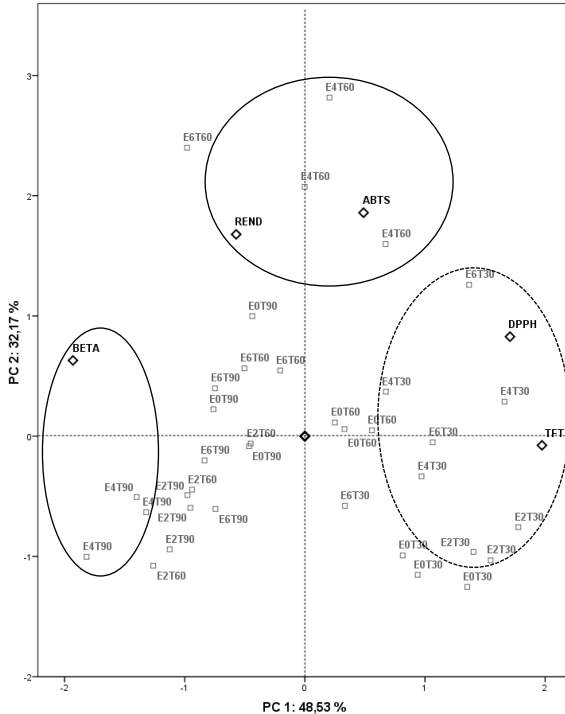
**Tabela 21:** Correlações (loadings) dos rendimentos, fenólicos e atividades antioxidantes das extrações assistidas por enzimas nas componentes principais 1 e 2.

Variáveis	Componente	
	PC1	PC2
Rendimentos	-0,267	<b>0,785</b>
TFT	<b>0,923</b>	-0,035
DPPH	<b>0,798</b>	0,387
ABTS	0,228	<b>0,869</b>
BETA	<b>-0,902</b>	0,294
Tratamentos de extrações*	-0,867	0,358
<i>Eigenvalue</i>	2,429	1,608
% Variância	48,53	32,17
% Variância acumulada	48,53	80,70

<sup>1</sup>teor de fenólicos totais; <sup>2</sup>atividade antioxidante pelo DPPH; <sup>3</sup>atividade antioxidante pelo ABTS; <sup>4</sup>atividade antioxidante após 120 minutos de reação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico; \*Variável suplementar.

As componentes PC1 e PC2 separaram os tratamentos das extrações assistidas por enzimas em três grupos distintos (Figura 20).

**Figura 20:** “Biplot” da separação dos tratamentos de extrações assistidas por enzimas em função das variáveis de rendimento, compostos fenólicos e atividades antioxidantes, nas componentes principais.



A componente 1 (PC1) com um maior peso de variância explicada (48,53 %) separou os tratamentos das extrações assistidas por enzimas em dois grupos. O grupo 1, onde as extrações realizadas com as concentrações 2, 4 e 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 30 minutos (E2T30, E4T30 e E6T30) foram influenciadas principalmente pelas correlações positivas entre estes tratamentos e o teor de fenólicos totais (TFT) e as atividades antioxidantes medida pelo método DPPH (DPPH). E o grupo 2, onde as extrações realizadas com a concentração 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 90 minutos (E4T90) foram influenciadas principalmente pela correlação negativa entre este tratamento e a atividade antioxidante medida pelo método β-caroteno (BETA).

Já a componente 2 (PC2) separou o grupo 3, aquele em que as extrações realizadas com a concentração 4 mL.100 kg<sup>-1</sup> por 60 minutos

(E4T60) foi influenciada principalmente pela correlação positiva entre este tratamento e o rendimento e a atividade antioxidante medida pelo método ABTS (ABTS).

Com base nas separações obtidas na PC1 e PC2 podemos estabelecer uma relação de que o tempo de reação de 30 minutos nas concentrações testadas foi o fator que mais contribuiu para a extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelo método DPPH, enquanto que o tempo de reação de 60 minutos nas concentrações 4 e 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> foi o fator que mais contribuiu para o rendimento e atividade antioxidante pelo método ABTS. A atividade antioxidante determinada pelo método  $\beta$ -caroteno foi influenciada pelo tempo de reação de 90 minutos na concentração de 4 mL.100 kg<sup>-1</sup>

A análise de componentes principais conseguiu separar os tratamentos de extração assistida por enzimas em função dos rendimentos, compostos e atividades avaliadas, fornecendo uma visão geral sobre o efeito do tempo em reação e da concentração do preparado enzimático utilizado na extração de compostos bioativos das cascas de umbu.

#### **4.11. Compostos fenólicos dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)**

Após a avaliação do teor de compostos fenólicos totais, das atividades antioxidantes determinadas pelos métodos DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico e da análise de componentes principais para os extratos obtidos por meio das técnicas de extração à baixa pressão sem uso de enzimas, como Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração com diferentes solventes; e hidrodestilação, selecionaram-se os extratos que demonstraram melhor desempenho para então serem analisados por cromatografia líquida de alta eficiência, que foram aqueles que empregaram os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência permitiu a identificação, de 18 compostos dentre os 20 compostos padrões fenólicos analisados, sendo 17 pela primeira vez nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, flavanóis (5), ácidos fenólicos (6), flavonóis (5) e o estilbeno *trans*-resveratrol.

Os resultados dos flavanóis quantificados nos extratos obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas estão apresentados na Tabela 22.

**Tabela 22:** Valores dos flavanóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.

FENÓLICOS	SOXHLET			ASSISTIDA POR ULTRASSOM			MACERAÇÃO		
	Hex	Dic	Ace	Hex	Dic	Ace	Hex	Dic	Ace
<b>Flavanóis (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>									
Catequina	4 <sup>a</sup>	ND	ND	4 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	4 <sup>a</sup>
Epicatequina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Epicatequina galato	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	84 ± 4
Epigallocatequina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	28 ± 8
Procianidina A2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Procianidina B1	8 <sup>a</sup>	ND	ND	8 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	8 <sup>a</sup>
Procianidina B2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	598 <sup>a</sup> ± 54	ND	4 <sup>b</sup>
<b>Flavanóis (Soma)</b>	12	-	-	12	12	-	598 ± 54	-	128 ± 12

Hex = Hexano; Dic= Diclorometano; Ace = Acetato de etila; ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não foram detectados os flavanóis: epicatequina e procianidina A2, em nenhum dos extratos obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.

Os flavanóis epicatequina galato e epigallocatequina galato só foram detectados nos extratos obtidos em maceração com solvente acetato de etila, apresentaram quantidades máximas de até  $84 \pm 4$  e  $28 \pm 8 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respectivamente. A identificação destes compostos nestes extratos pode ser justificada pelo maior tempo de extração aliado ao uso de solvente apolar.

Para os flavanóis catequina e procianidina B1 nos extratos detectados, não houve diferenças significativas entre os extratos obtidos nas diferentes técnicas de extração e solventes avaliados, apresentaram quantidades máximas de até 4 e  $8 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respectivamente.

A procianidina B2 foi detectada nos extratos obtidos em maceração, apresentando diferença significativa entre o extrato obtido com hexano e o extrato obtido com acetato de etila e foi, dentre os flavanóis, o composto presente em maior quantidade nestas amostras (até  $598 \pm 54 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

Os resultados dos ácidos fenólicos quantificados nos extratos obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas estão apresentados na Tabela 23.

Os ácidos fenólicos gálico e siríngico só foram detectados nos extratos obtidos em maceração com solvente acetato de etila, apresentaram quantidades máximas de até 16 e  $44 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respectivamente. Suas identificações também podem ser justificadas pelo maior tempo de extração aliado ao uso de solvente apolar.

O ácido benzóico foi detectado apenas no extrato obtido em Soxhlet com hexano, apresentou quantidade máxima de até  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$ , e nesse processo a presença deste composto pode ser justificada sua liberação, pelo uso do solvente apolar aliado a maior temperatura de extração utilizada em relação aos outros processos de extração.

O ácido cinâmico foi detectado nos extratos obtidos em Soxhlet, extração assistida por ultrassom e maceração, apresentou quantidade máxima de até  $30 \pm 2 \text{ mg.kg}^{-1}$ , com diferença significativa entre o extrato obtido com hexano e o extrato obtido com acetato de etila em Soxhlet.

O ácido *o*-cumárico foi, dentre os ácidos fenólicos, o composto presente em maior quantidade (até  $36 \pm 8 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) detectado nos extratos obtidos em Soxhlet, extração assistida por ultrassom e

**Tabela 23:** Valores dos ácidos fenólicos em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.

FENÓLICOS	SOXHLET			ASSISTIDA POR ULTRASSOM			MACERAÇÃO		
	Hex	Dic	Ace	Hex	Dic	Ace	Hex	Dic	Ace
Ácidos Fenólicos (mg.kg <sup>-1</sup> )									
Ácido gálico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16
Ácido cinâmico	30 <sup>a</sup> ± 2	12 <sup>b</sup>	ND	ND	8 <sup>c</sup>	ND	ND	10 <sup>bc</sup> ± 2	12 <sup>b</sup>
Ácido <i>o</i> -cumárico	ND	10 <sup>c</sup> ± 2	22 <sup>b</sup> ± 10	ND	22 <sup>b</sup> ± 6	36 <sup>a</sup> ± 8	32 <sup>ab</sup>	22 <sup>b</sup> ± 2	26 <sup>ab</sup> ± 2
Ácido <i>p</i> -cumárico	ND	28 <sup>a</sup> ± 4	26 <sup>a</sup> ± 2	ND	14 <sup>b</sup> ± 2	14 <sup>b</sup> ± 2	ND	14 <sup>b</sup> ± 2	22 <sup>a</sup> ± 6
Ácido benzoico	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido siríngico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	44
Ácidos fenólicos (Soma)	34 ± 2	50 ± 6	48 ± 12	-	44 ± 8	50 ± 10	32	46 ± 6	120 ± 8

Hex = Hexano; Dic= Diclorometano; Ace = Acetato de etila; ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



maceração, apresentando diferença significativa entre o extrato obtido com diclorometano e o extrato obtido com acetato de etila em Soxhlet e extração assistida por ultrassom.

O ácido *p*-cumárico apresentou quantidade máxima de até  $28 \pm 4$  mg.kg<sup>-1</sup> não foi detectado nos extratos obtidos com hexano em nenhuma das técnicas utilizadas, mas com os solventes diclorometano e acetato de etila, foi detectado em todas, com diferença significativa entre os extratos obtidos em maceração.

Os resultados dos flavonóis e o estilbeno *trans*-resveratrol quantificados nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas estão apresentados na Tabela 24.

Os flavonóis *kaempferol*, isoramnetina e miricetina só foram detectados nos extratos obtidos em Soxhlet e em maceração apresentaram quantidades máximas de até  $38 \pm 8$ , 36 e 12 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

A quercetina foi o único flavonol detectado em todos os extratos obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas. As quantidades máximas de quercetina, quercetina piranosídeo e rutina foram de até 104, 16 e  $598 \pm 18$  mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente. As quantidades detectadas nestes flavonóis apresentaram diferenças significativas entre os extratos obtidos em extração assistida por ultrassom, os melhores resultados foram fornecidos quando utilizou o solvente acetato de etila.

Rutina foi dentre os flavonóis, o composto presente em maior quantidade nestas amostras. A quantidade de rutina também apresentou diferença significativa entre os extratos obtidos em maceração, sendo o extrato obtido com hexano, o que forneceu os melhores resultados.

Ao se comparar os métodos de extração Soxhlet, assistida por ultrassom e maceração aqui empregados para um mesmo solvente, nota-se que o acetato de etila forneceu as maiores quantidades de quercetina quando extraído em maceração e as maiores quantidades de quercetina piranosídeo e rutina quando extraídos em extração assistida por ultrassom, diferindo significativamente dos demais.

O extrato obtido com hexano em Soxhlet forneceu a maior quantidade do estilbeno *trans*-resveratrol (até  $6 \pm 2$  mg.kg<sup>-1</sup>), diferindo significativamente dos demais.

Genovese et al. (2008) caracterizaram polpa comercial congelada de umbu e detectaram quercetina na quantidade de 9,6 mg.kg<sup>-1</sup>, conteúdo bem abaixo dos encontrados na maioria dos extratos obtidos no presente estudo.

**Tabela 24:** Valores dos flavonóis e *trans*-resveratrol em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.

FENÓLICOS	SOXHLET			ASSISTIDA POR ULTRASSOM			MACERAÇÃO		
	Hex	Dic	Ace	Hex	Dic	Ace	Hex	Dic	Ace
<b>Flavonóis (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>									
<i>Kaempferol</i>	38 <sup>a</sup> ± 6	ND	10 <sup>b</sup> ± 2	ND	ND	ND	ND	ND	10 <sup>b</sup> ± 2
Quercetina	4 <sup>e</sup>	24 <sup>d</sup> ± 8	30 <sup>cd</sup> ± 2	4 <sup>e</sup>	40 <sup>c</sup>	60 <sup>b</sup> ± 16	28 <sup>cd</sup>	30 <sup>cd</sup> ± 2	104 <sup>a</sup>
Quercetina piranosídeo	16 <sup>a</sup>	ND	4 <sup>c</sup>	4 <sup>c</sup>	8 <sup>b</sup>	16 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup> ± 2	10 <sup>b</sup> ± 2	10 <sup>b</sup> ± 2
Isoramnetina	36 <sup>a</sup>	ND	10 <sup>c</sup> ± 2	ND	ND	ND	ND	4 <sup>d</sup>	14 <sup>b</sup> ± 2
Rutina	138 <sup>c</sup> ± 6	12 <sup>f</sup>	158 <sup>e</sup> ± 6	166 <sup>e</sup> ± 26	328 <sup>c</sup> ± 8	454 <sup>b</sup> ± 18	598 <sup>a</sup> ± 18	492 <sup>b</sup> ± 16	262 <sup>d</sup> ± 66
Miricetina	12 <sup>a</sup>	ND	12 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	8 <sup>b</sup>	8 <sup>b</sup> ± 4
Flavonóis (Soma)	244 ± 12	36 ± 8	224 ± 12	174 ± 26	376 ± 8	530 ± 34	636 ± 20	536 ± 20	400 ± 76
<b>Estilbeno (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>									
<i>Trans</i> -Resveratrol	6 <sup>a</sup> ± 2	4 <sup>b</sup>	ND	ND	ND	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>

Hex = Hexano; Dic= Diclometano; Ace = Acetato de etila; ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Gonçalves, Lojolo e Genovese (2010) também identificaram quercetina em polpa comercial congelada de umbu ( $94 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), conteúdo próximo ao detectado no extrato obtido em maceração com solvente acetato de etila ( $104 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) do presente trabalho.

Omena et al. (2012) revelaram quercetina no extrato etanólico de cascas de umbu na quantidade de  $32,65 \text{ mg.kg}^{-1}$ , conteúdo bem similar aos encontrados nos extratos obtidos em maceração com os solventes hexano e diclorometano e no extrato obtido em Soxhlet com o solvente acetato de etila.

Silva et al. (2011) encontraram além de quercetina, rutina e em quantidades bem superiores ( $24460$  e  $53380 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respectivamente) aos valores encontrados no presente estudo, porém estes autores utilizaram folhas do umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), podendo ser justificada esta diferença.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência permitiu a identificação, pela primeira vez nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica de 8 compostos dentre os 20 compostos padrões fenólicos analisados, flavanóis (3), ácidos fenólicos (4) e o estilbeno *trans-resveratrol*.

Não foram detectados em nenhum dos extratos obtidos em extração supercrítica, os flavanóis epicatequina galato, epigalocatequina galato, procianidina A2 e procianidina B2; os ácidos fenólicos gálico e siríngico; e os flavonóis: *kaempferol*, quercetina, quercetina piranosídeo, isoramnetina, rutina e miricetina.

Os resultados dos flavanóis quantificados nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica estão apresentados na Tabela 25.

Os flavanóis catequina e procianidina B1 só foram detectados nos extratos obtidos na pressão de 400 bar e temperatura de  $55 \text{ }^\circ\text{C}$ , e apresentaram quantidades máximas de até 4 e  $8 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respectivamente. A identificação destes compostos nestes extratos pode ser justificada pelo uso da condição de maior pressão de trabalho aliada a maior temperatura de extração.

O flavanol epicatequina só foi detectado no extrato obtido na pressão de 200 bar e temperatura de  $35 \text{ }^\circ\text{C}$ , sendo o composto presente em maior quantidade (até  $32 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) nestas amostras, dentre os flavanóis.

**Tabela 25:** Valores dos flavanóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica.

FENÓLICOS	200 bar			300 bar			400 bar		
	35 °C	45 °C	55 °C	35 °C	45 °C	55 °C	35 °C	45 °C	55 °C
<b>Flavanóis (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>									
Catequina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4
Epicatequina	32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Epicatequina galato	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Epigallocatequina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Procianidina A2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Procianidina B1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8
Procianidina B2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Flavanóis (Soma)	32	-	-	-	-	-	-	-	12

ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados dos ácidos fenólicos e o estilbeno *trans*-resveratrol quantificados nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica estão apresentados na Tabela 26.

O ácido fenólico benzóico só foi detectado nos extratos obtidos na pressão de 400 bar e temperatura de 55 °C e apresentou quantidade máxima de até 8 mg.kg<sup>-1</sup>. Sua identificação também pode ser justificada pelo uso da condição de maior pressão de trabalho aliada a maior temperatura de extração.

O ácido cinâmico foi detectado nos extratos obtidos em todas as condições testadas de extração supercrítica, porém não apresentou diferença significativa entre eles, e os valores médios variaram de 12 a 22 mg.kg<sup>-1</sup>, sendo dentre os ácidos fenólicos, o composto presente em maior quantidade detectado nos extratos obtidos em extração supercrítica.

O ácido *o*-cumárico foi detectado nos extratos obtidos em todas as condições testadas de extração supercrítica, exceto na condição de 400 bar e 55 °C e apresentou quantidade máxima de até 32 mg.kg<sup>-1</sup>.

Os resultados do efeito da temperatura na taxa de extração a uma pressão constante demonstraram que na pressão testada de 300 bar à medida que a temperatura aumentou de 45 para 55 °C houve uma redução da quantidade de ácido *o*-cumárico detectado, diferindo significativamente dos demais.

Os resultados do efeito da pressão na taxa de extração a uma temperatura constante demonstraram que na temperatura testada de 45 °C à medida que a pressão aumentou de 200 para 300 bar houve um aumento da quantidade de ácido *o*-cumárico detectado, com diferença significativa.

O ácido *p*-cumárico foi detectado nos extratos obtidos em todas as condições testadas de extração supercrítica e apresentou quantidade máxima de até 20 mg.kg<sup>-1</sup>.

Os resultados do efeito da temperatura na taxa de extração a uma pressão constante demonstraram que na pressão testada de 200 bar à medida que aumentou a temperatura de 35 para 45 °C houve uma redução da quantidade de ácido *p*-cumárico detectado, com diferença significativa.

Os resultados do efeito da pressão na taxa de extração a uma temperatura constante demonstraram que na temperatura testada de 35 °C à medida que aumentou a pressão de 200 para 400 bar houve também uma redução da quantidade de ácido *p*-cumárico detectado, com

**Tabela 26:** Valores dos ácidos fenólicos e *trans*-resveratrol em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica.

FENÓLICOS	200 bar			300 bar			400 bar		
	35 °C	45 °C	55 °C	35 °C	45 °C	55 °C	35 °C	45 °C	55 °C
<b>Ácidos Fenólicos (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>									
Ácido gálico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido cinâmico	22 <sup>a</sup> ± 10	12 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup> ± 2	16 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup> ± 2	16 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup> ± 2	20 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup>
Ácido <i>o</i> -cumárico	14 <sup>bc</sup> ± 10	12 <sup>bc</sup> ± 4	4 <sup>c</sup>	22 <sup>ab</sup> ± 10	32 <sup>a</sup>	4 <sup>c</sup>	8 <sup>bc</sup>	20 <sup>ab</sup> ± 8	ND
Ácido <i>p</i> -cumárico	20 <sup>a</sup> ± 12	4 <sup>b</sup>	8 <sup>ab</sup>	8 <sup>ab</sup>	8 <sup>ab</sup>	10 <sup>ab</sup> ± 2	6 <sup>b</sup> ± 2	12 <sup>ab</sup>	8 <sup>ab</sup> ± 4
Ácido benzoico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8
Ácido siríngico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácidos fenólicos (Soma)	56 ± 22	28 ± 4	26 ± 2	46 ± 10	54 ± 2	30 ± 2	28 ± 4	52 ± 8	24 ± 4
<b>Estilbeno (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>									
<i>Trans</i> -Resveratrol	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

diferença significativa.

O estilbeno *trans*-resveratrol só foi detectado no extrato obtido na condição de pressão 200 bar e temperatura 35 °C e apresentou quantidade máxima de até 4 mg.kg<sup>-1</sup>.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência permitiu a identificação, pela primeira vez nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas de 8 compostos dentre os 20 compostos padrões fenólicos analisados, flavanóis (3), ácidos fenólicos (4) e o flavonol rutina.

Não foram detectados em nenhum dos extratos obtidos em extração assistida por enzimas, os flavanóis epicatequina, epicatequina galato, epigallocatequina galato e procianidina A2; os ácidos fenólicos *o*-cumárico e siríngico; os flavonóis: *kaempferol*, quercetina, quercetina piranosídeo, isorammetina e miricetina.

Os resultados dos flavanóis quantificados nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas estão apresentados na Tabela 27.

O flavanol procianidina B1 só foi detectado no extrato obtido no tempo de reação de 90 minutos e concentração de 6 mL.100 kg<sup>-1</sup>, e apresentou quantidade máxima de até 8 mg.kg<sup>-1</sup>. A identificação deste composto neste extrato pode ser justificada pelo uso da condição de maior concentração aliada ao maior tempo de reação de extração.

Procianidina B2 foi detectada nos extratos obtidos no tempo de reação de 30 minutos nas concentrações de 2 e 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> e apresentou quantidade máxima de até 4 mg.kg<sup>-1</sup>, sem diferença significativa entre eles.

O flavanol catequina foi detectado nos extratos obtidos em todas as condições testadas de extração assistida por enzimas, inclusive no controle sem diferença significativa e foi o composto presente em maior quantidade (até 16 mg.kg<sup>-1</sup>) nestas amostras, dentre os flavanóis.

Os resultados dos ácidos fenólicos quantificados nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas estão apresentados na Tabela 28.

O ácido fenólico cinâmico só foi detectado no extrato obtido no tempo de reação de 90 minutos na concentração de 6 mL.100 kg<sup>-1</sup> e apresentou quantidade máxima de até 16 mg.kg<sup>-1</sup>. Sua identificação

**Tabela 27:** Valores dos flavanóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.

FENÓLICOS	Controle (sem enzima)			2 mL.100 kg <sup>-1</sup>			4 mL.100 kg <sup>-1</sup>			6 mL.100 kg <sup>-1</sup>		
	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min
<b>Flavanóis (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>												
Catequina	10 <sup>a</sup> ± 2	14 <sup>a</sup> ± 2	14 <sup>a</sup> ± 2	16 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup> ± 2	12 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup> ± 2	14 <sup>a</sup> ± 6	12 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup> ± 4	12 <sup>a</sup> ± 4	12 <sup>a</sup>
Epicatequina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Epicatequina galato	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Epigallocatequina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Procianidina A2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Procianidina B1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8
Procianidina B2	ND	ND	ND	4 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	4 <sup>a</sup>	ND	ND
Flavanóis (Soma)	10 ± 2	14 ± 2	14 ± 2	20	10 ± 2	12	14 ± 2	14 ± 6	12	20 ± 4	12 ± 4	12

ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



**Tabela 28:** Valores dos ácidos fenólicos em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.

FENÓLICOS	Controle (sem enzima)			2 mL.100 kg <sup>-1</sup>			4 mL.100 kg <sup>-1</sup>			6 mL.100 kg <sup>-1</sup>		
	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min
<b>Ácidos Fenólicos (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>												
Ácido gálico	24 <sup>a</sup> ± 4	30 <sup>a</sup> ± 6	40 <sup>a</sup> ± 8	36 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup> ± 4	36 <sup>a</sup> ± 4	32 <sup>a</sup> ± 4	26 <sup>a</sup> ± 6	32 <sup>a</sup>	40 <sup>a</sup> ± 12	32 <sup>a</sup> ± 12	32 <sup>a</sup>
Ácido cinâmico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16
Ácido <i>o</i> -cumárico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido <i>p</i> -cumárico	ND	ND	ND	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido benzóico	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	ND	6 <sup>a</sup> ± 2	ND	ND	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	ND	4 <sup>b</sup>
Ácido siríngico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácidos fenólicos (Soma)	28 ± 4	34 ± 6	40 ± 8	46 ± 2	28 ± 4	36 ± 4	36 ± 4	30 ± 6	36	44 ± 12	32 ± 12	52

ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

também pode ser justificada pelo uso da condição de maior concentração aliada ao maior tempo de reação de extração.

O ácido *p*-cumárico só foi detectado no extrato obtido no tempo de reação de 30 minutos na concentração de 2 mL.100 kg<sup>-1</sup> e apresentou quantidade máxima de até 4 mg.kg<sup>-1</sup>.

O ácido benzóico apresentou quantidade máxima até 6 ± 2 mg.kg<sup>-1</sup> e foi detectado nos extratos obtidos no tempo de reação de 30 minutos em todas as concentrações, inclusive no controle; no tempo de reação de 60 minutos no controle e na concentração de 4 mL.100 kg<sup>-1</sup>; e no tempo de reação de 90 minutos nas concentrações de 4 e 6 mL.100 kg<sup>-1</sup>.

Os resultados do efeito da concentração a um tempo de reação constante demonstraram que no tempo de 30 minutos à medida que utilizou a concentração 2 mL.100 kg<sup>-1</sup> houve um aumento da quantidade de ácido benzóico detectado, diferindo significativamente das demais.

O ácido gálico foi detectado nos extratos obtidos em todas as condições testadas de extração assistida por enzimas, inclusive no controle, porém não apresentou diferenças significativas entre eles. A quantidade máxima detectada do ácido gálico foi de até 40 ± 8 mg.kg<sup>-1</sup>, sendo dentre os ácidos fenólicos, o composto presente em maior quantidade detectado nos extratos obtidos em extração assistida por enzimas.

Os resultados do flavonol rutina quantificado nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas estão apresentados na Tabela 29.

O flavonol rutina foi detectado nos extratos obtidos em todas as condições testadas de extração assistida por enzimas, inclusive no controle, porém não apresentou diferenças significativas entre eles.

A quantidade máxima detectada do flavonol rutina foi de até 100 ± 44 mg.kg<sup>-1</sup>.

Considerando todas as técnicas de extração empregadas no presente estudo quanto à identificação e quantificação dos compostos fenólicos individuais analisados, destaca-se que procianidina A2 foi o único composto que não foi detectado em nenhum dos extratos obtidos.

Catequina, que é considerado um antioxidante poderoso, foi detectada em todas as técnicas, contudo os extratos obtidos em extração assistida por enzimas na condição de concentração de 2 mL.100 kg<sup>-1</sup> e tempo de reação de 30 minutos apresentaram maior conteúdo deste composto.

De acordo com Golebiowski et al. (2010) os flavanóis são

**Tabela 29:** Valores dos flavonóis em extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas.

FENÓLICOS	Controle (sem enzima)			2 mL.100 kg <sup>-1</sup>			4 mL.100 kg <sup>-1</sup>			6 mL.100 kg <sup>-1</sup>		
	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min
<b>Flavonóis (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>												
<i>Kaempferol</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quercetina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quercetina piranosídeo	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Isohamnetina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Rutina	44 <sup>a</sup> ± 28	36 <sup>a</sup> ± 8	56 <sup>b</sup> ± 24	100 <sup>a</sup> ± 44	40 <sup>a</sup> ± 4	48 <sup>a</sup> ± 12	88 <sup>a</sup> ± 48	46 <sup>a</sup> ± 18	32 <sup>a</sup> ± 8	86 <sup>b</sup> ± 38	60 <sup>b</sup> ± 4	44 <sup>a</sup>
Miricetina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Flavonóis (Soma)	44 ± 28	36 ± 8	56 ± 24	100 ± 44	40 ± 4	48 ± 12	88 ± 48	46 ± 18	32 ± 8	86 ± 38	60 ± 4	44

ND = Não Detectado. Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

encontrados em muitos tipos de frutos, sendo catequinas maioria quantitativamente. Estes autores ao avaliarem cascas de diferentes cultivares de maçã encontraram catequina na cultivar sawa, com concentração de  $10 \pm 3 \text{ mg.kg}^{-1}$ . O conteúdo de catequina determinado nos extratos obtidos em extração assistida por enzimas do presente trabalho foi superior ao encontrado na casca da cultivar sawa.

Ramalho et al. (2014) determinaram conteúdos de catequina em vinhos elaborados por meio de diferentes sucos de frutas tropicais exóticas, e o elaborado com umbu apresentou  $5,48 \pm 0,12 \text{ mg.L}^{-1}$  de catequina e foi considerado como de quantidade apreciável deste composto, portanto os extratos de farinha de cascas de umbu também podem ser considerados como fonte apreciável de catequina.

Procianidina B1 foi detectada e quantificada na mesma quantidade em todas as técnicas aplicadas.

Dos compostos identificados por Mezadri et al. (2008) em acerolas e derivados, a procianidina B1 foi o mais abundante, com conteúdos variando de  $1,38$  a  $3,19 \text{ mg.L}^{-1}$  em polpas e de  $1,03$  a  $8,53 \text{ mg.L}^{-1}$  em sucos, comprovando que a acerola é uma fruta com alto teor deste composto. O conteúdo de procianidina B1 encontrado nos extratos obtidos em extração à baixa pressão sem uso de enzimas, supercrítica e assistida por enzimas do presente trabalho foi superior aos encontrados nas polpas e semelhantes ao máximo encontrado nos sucos de acerola, e comprovou que o umbu também é uma fruta com alto teor deste composto.

Os ácidos cinâmico e *p*-cumárico foram identificados em todas as técnicas, porém ácido cinâmico foi predominante nos extratos obtidos em extração Soxhlet com solvente hexano e ácido *p*-cumárico predominante nos obtidos com solvente diclorometano também em Soxhlet.

Ehala, Vaher e Kaljurand (2005) caracterizaram frutas vermelhas do norte europeu e encontraram uma quantidade substancial de ácido cinâmico em morango ( $10,81 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e em groselha ( $1,03 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). O teor de ácido cinâmico encontrado nos extratos obtidos em extração à baixa pressão sem uso de enzimas, supercrítica e assistida por enzimas do presente trabalho foram superiores aos encontrados em morango e groselha por estes autores.

Burin et al. (2014) avaliaram diferentes métodos de extração de compostos bioativos e atividade antioxidante de uvas para produção de vinhos (*Vitis vinifera*) e para produção de sucos (*Vitis labrusca*) e

encontraram ácido *p*-cumárico variando de 2,76 a 3,67 mg.kg<sup>-1</sup> e 2,69 a 2,88 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente. O conteúdo encontrado nos extratos obtidos em extração à baixa pressão sem uso de enzimas, supercrítica e assistida por enzimas de ácido *p*-cumárico do presente trabalho foram superiores aos encontrados por Burin et al. (2014) e também ao encontrado por Gomes et al. (2013) que determinaram em polpa de umbu uma concentração de 1,8 mg.kg<sup>-1</sup> deste composto.

O ácido benzóico foi identificado em todas as técnicas utilizadas, entretanto este composto predominou nos extratos obtidos em extração supercrítica na condição de 400 bar e 55 °C.

A concentração de ácido benzóico quantificada por Zuo, Wang e Zhan (2002) em mirtilo vermelho (481 mg.kg<sup>-1</sup>) foi especialmente alta, contrapondo com as concentrações encontradas nos extratos da presente pesquisa que foram especialmente baixas.

Epicatequina galato, epigalocatequina galato, ácido siríngico, *kaempferol*, quercetina, quercetina piranosídeo e miricetina foram detectados apenas nos extratos obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas.

Epicatequina galato, epigalocatequina galato, ácido siríngico e quercetina predominaram nos extratos obtidos em maceração com solvente acetato de etila. Nos extratos obtidos em extração Soxhlet com solvente hexano predominaram *kaempferol*, miricetina e quercetina piranosídeo, sendo que para este último composto não houve diferença significativa com os extratos obtidos em extração assistida por ultrassom com solvente acetato de etila.

Epicatequina galato e epigalocatequina galato são dois antioxidantes importantes em chá, Petisca et al. (2008) analisaram bebidas que continham chá verde e encontraram o conteúdo máximo de epicatequina galato de 85,17 ± 0,23 mg.L<sup>-1</sup> e de epigalocatequina galato de 387,55 ± 10,17 mg.L<sup>-1</sup>. O conteúdo de epicatequina galato encontrado por estes autores foi semelhante ao encontrado no presente trabalho e comprovam que o umbu é uma fruta com quantidade considerável deste composto.

Russell et al. (2009) quantificaram ácidos fenólicos em frutas comumente consumidas e produzidas localmente na Escócia e encontraram ácido siríngico em banana, maçã e laranja, com conteúdos de 0,21 ± 0,10, 1,10 ± 0,64 e 2,53 ± 0,76 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente. O conteúdo de ácido siríngico encontrado na presente pesquisa foi superior aos conteúdos encontrados por estes autores nestas frutas.

Altos teores de *kaempferol* e quercetina foram quantificados no presente trabalho, sendo maiores que em todas as frutas investigadas por Ribani, Huber e Rodriguez-Amaya (2009) inclusive maiores que os teores encontrados em maçã, fruta reconhecida internacionalmente como uma rica fonte destes compostos. O teor de miricetina foi semelhante ao encontrado por estas autoras em caju.

O ácido *o*-cumárico e estilbeno *trans*-resveratrol foram detectados nas técnicas à baixa pressão sem uso de enzimas e em extração supercrítica, todavia o ácido *o*-cumárico predominou nos extratos obtidos em extração assistida por ultrassom com acetato de etila e o *trans*-resveratrol nos obtidos em Soxhlet com hexano.

Marshall, Stringer e Spiers (2012) analisaram cascas de 21 cultivares de uvas muscadíneas e em 20 encontraram o estilbeno *trans*-resveratrol, 9 com teores entre 1,27 e 9,55 mg.kg<sup>-1</sup>, 4 com teores entre 12,02 e 19,08 mg.kg<sup>-1</sup>, 6 com teores entre 20,65 e 34,34 mg.kg<sup>-1</sup> e apenas uma cultivar com teor de 66,38 mg.kg<sup>-1</sup>. O teor de *trans*-resveratrol encontrado nos extratos do presente estudo foi superior ao teor uma cultivar e semelhante aos teores de 5 cultivares quantificados por estes autores em cascas de uvas. A presença de *trans*-resveratrol nas cascas de umbu abre possibilidades de criação de benefícios nutracêuticos à saúde e bem estar dos consumidores.

Procianidina B2, ácido gálico e rutina foram identificados nas técnicas à baixa pressão sem uso de enzimas e em extração assistida por enzimas, todavia a procianidina B2 e a rutina predominaram nos extratos obtidos em maceração com hexano, enquanto o ácido gálico predominou nos extratos obtidos em extração assistida por enzimas.

Alonso-Salces et al. (2005) pesquisaram cascas de maçãs maduras e encontraram conteúdos de procianidina B2 variando de 8 a 56 mg.kg<sup>-1</sup>, o conteúdo encontrado no extrato obtido em maceração com hexano da presente pesquisa foi notadamente mais elevado.

Altos teores de ácido gálico foram quantificados no presente trabalho, sendo maiores que em todas as frutas investigadas por Russell et al. (2009) inclusive maiores que os teores encontrados em groselha, fruta reconhecida internacionalmente como uma rica fonte deste composto.

Peres et al. (2013) pesquisaram atividade fitotóxica e antioxidante em sete frutas nativas do Brasil e encontraram rutina em quatro delas, com teores variando de 100 a 1710 mg.kg<sup>-1</sup> nos extratos de cascas de jabuticaba, de 931 a 4393 mg.kg<sup>-1</sup> nos extratos de araçás inteiros, de

2989 a 5686 mg.kg<sup>-1</sup> nos extratos de cascas de tamarindo e 2802 mg.kg<sup>-1</sup> no extrato de cascas de jatobá. Os conteúdos de rutina encontrados nos extratos obtidos na presente pesquisa foram inferiores aos detectados nas frutas investigadas por estes autores.

Epicatequina foi detectada apenas nos extratos obtidos em extração supercrítica na pressão de 200 bar e temperatura de 45 °C.

Ramalho et al. (2014) determinaram conteúdos de epicatequina em vinhos elaborados por meio de diferentes sucos de frutas tropicais exóticas, e o elaborado com umbu apresentou  $2,19 \pm 0,21$  mg.L<sup>-1</sup> de epicatequina. O extrato de farinha de cascas de umbu do presente estudo apresentou teor de epicatequina superior a todos os vinhos elaborados, inclusive aos vinhos comerciais que também foram analisados, portanto pode ser considerado como fonte apreciável de epicatequina.

Com uma procura cada vez maior por alimentos mais saudáveis, a presença de todos estes compostos nos extratos de cascas de umbu mostra que esta fruta é um "tesouro escondido" e que tem muito ainda o que se pesquisar.

#### **4.12. Correlação de Pearson entre compostos identificados e atividade antioxidante**

Foi realizada a relação entre os compostos identificados na cromatografia líquida de alta eficiência e a atividade antioxidante utilizando os coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre compostos fenólicos e as atividades antioxidantes determinadas por meio dos métodos DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Para fins de discussão utilizamos os coeficientes positivos de correlação, significativos a 1 % de probabilidade de erro, entre os compostos analisados e as atividades antioxidantes obtidas.

Os coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre compostos fenólicos e as atividades antioxidantes com DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas estão apresentados na Tabela 30.

Para o método DPPH os compostos fenólicos individuais analisados que apresentaram valores de  $r$  positivos ( $p < 0,01$ ) foram os flavanóis catequina ( $r = 0,41$ ) e procianidina B1 ( $r = 0,41$ ), os flavonóis quercetina piranosídeo ( $r = 0,41$ ) e rutina ( $r = 0,50$ ).

**Tabela 30:** Correlação de Pearson entre os compostos fenólicos quantificados e a atividade antioxidante nas extrações à baixa pressão sem uso de enzimas.

FENÓLICOS	DPPH		ABTS		β-caroteno	
	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>
<b>FLAVANOIS</b>						
Catequina	0,41**	0,00	0,51**	0,00	0,45**	0,00
Epicat. Galato	0,03	0,86	-0,08	0,60	0,16	0,29
Epigallocatequina	0,02	0,87	-0,07	0,65	0,15	0,31
Procianidina B1	0,41**	0,00	0,51**	0,00	0,45**	0,00
Procianidina B2	0,11	0,46	-0,14	0,93	0,11	0,46
<b>FLAVONOIS</b>						
<i>Kaempferol</i>	0,07	0,65	0,03	0,82	0,40**	0,00
Quercetina	0,22	0,13	0,06	0,68	0,36*	0,01
Quer. piranosídeo	0,41**	0,00	0,19	0,19	0,48**	0,00
Isoramnetina	0,11	0,44	0,03	0,86	0,43**	0,00
Rutina	0,50**	0,00	0,20	0,16	0,40**	0,00
Miricetina	0,20	0,18	0,03	0,84	0,50**	0,00
<b>ESTILBENO</b>						
<i>t</i> -Resveratrol	0,34*	0,02	0,05	0,71	0,51**	0,00
<b>ÁC.FENÓLICOS</b>						
Ácido gálico	0,03	0,86	-0,08	0,60	0,16	0,29
Ácido cinâmico	0,25	0,08	0,05	0,71	0,48**	0,00
Ácido <i>o</i> -cumárico	0,25	0,08	0,05	0,74	0,35*	0,01
Ácido <i>p</i> -cumárico	0,15	0,30	0,10	0,49	0,47**	0,00
Ácido benzoico	0,09	0,55	0,04	0,78	0,30*	0,04
Ácido siríngico	0,03	0,86	-0,08	0,60	0,16	0,29
TFT	0,76**	0,00	0,84**	0,00	0,55**	0,00

*Prob.*= probabilidade; Epicat. = epicatequina; Quer. = quercetina; TFT = teor de fenólicos totais. \* Correlações significativas a 5% de probabilidade de erro ( $p < 0,05$ ).

\*\*Correlações significativas a 1% de probabilidade de erro ( $p < 0,01$ ).

Para o método ABTS os compostos fenólicos individuais analisados que apresentaram valores de *r* positivos ( $p < 0,01$ ) foram os flavanóis catequina ( $r = 0,51$ ) e procianidina B1 ( $r = 0,51$ ).

Para o método β-caroteno/ácido linoleico os compostos fenólicos individuais analisados que apresentaram valores de *r* positivos ( $p < 0,01$ ) foram os flavanóis catequina ( $r = 0,45$ ) e procianidina B1 ( $r =$



0,45), os flavonóis *kaempferol* ( $r = 0,40$ ), quercetina piranosídeo ( $r = 0,48$ ), isoramnetina ( $r = 0,43$ ), rutina ( $r = 0,40$ ) e miricetina ( $r = 0,50$ ), o estilbeno *trans-resveratrol* ( $r = 0,51$ ) e os ácidos fenólicos cinâmico ( $r = 0,48$ ) e *p-cumárico* ( $r = 0,47$ ).

As correlações obtidas entre os métodos de medição de atividade antioxidante DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico e o teor de fenólicos totais também foram positivas e significativas a 1 %, e apresentaram valores de 0,76, 0,84 e 0,55, respectivamente.

Os flavanóis catequina e procianidina B1 também apresentaram valores de  $r$  positivo ( $p < 0,01$ ) de 0,48 para o teor de fenólicos totais.

Houve correlação positiva e significativa entre a atividade antioxidante e a concentração de catequina e procianidina B1 nos três métodos empregados, indicando que, nos extratos avaliados à baixa pressão sem uso de enzimas, essa atividade foi influenciada por estes compostos bioativos determinados.

Outros autores verificaram, assim como foi verificado no presente estudo, uma correlação direta entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais, sendo estes considerados os mais representativos entre as substâncias bioativas com atividade antioxidante (RUFINO et al., 2010; ALMEIDA et al., 2011; OMENA et al., 2012).

A atividade antioxidante pelo método  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico teve correlação com mais compostos fenólicos individuais do que pelo DPPH e ABTS, indicando que, de acordo com Kiokias et al. (2008), a maior eficácia protetora é proveniente de antioxidantes lipofílicos presentes nestes extratos.

Os coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre compostos fenólicos e as atividades antioxidantes com DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica estão apresentados na Tabela 31.

Nota-se que os compostos fenólicos individuais analisados não apresentaram correlações significativas a 1% de probabilidade com as atividades antioxidantes determinadas pelos métodos DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Os métodos de medição de atividades antioxidantes aqui empregados também não apresentaram correlações significativas a 1% com o teor de fenólicos totais.

**Tabela 31:** Correlação de Pearson entre os compostos fenólicos quantificados e a atividade antioxidante nas extrações supercríticas.

FENÓLICOS	DPPH		ABTS		β-caroteno	
	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>
<b>FLAVANOIS</b>						
Catequina	-0,09	0,65	-0,41*	0,03	0,42*	0,03
Epicatequina	-0,52*	0,00	0,16	0,41	-0,68**	0,00
Procianidina B1	-0,09	0,65	-0,41*	0,03	0,42*	0,03
<b>ESTILBENO</b>						
<i>t</i> -Resveratrol	-0,52**	0,00	0,16	0,41	-0,68**	0,00
<b>ÁC.FENÓLICOS</b>						
Ácido cinâmico	-0,32	0,11	0,02	0,93	-0,29	0,15
Ácido <i>o</i> -cumárico	0,07	0,74	0,15	0,46	-0,03	0,86
Ácido <i>p</i> -cumárico	-0,42*	0,03	0,15	0,47	-0,34	0,08
Ácido benzoico	-0,09	0,65	-0,41*	0,03	-0,42*	0,03
Ácido siríngico	0,03	0,86	-0,08	0,60	0,16	0,29
TFT	0,31	0,12	0,37	0,06	-0,11	0,59

*Prob.*= probabilidade; TFT = teor de fenólicos totais. \* Correlações significativas a 5% de probabilidade de erro ( $p < 0,05$ ). \*\*Correlações significativas a 1% de probabilidade de erro ( $p < 0,01$ ).

Quando consideramos os coeficientes positivos de correlação significativos a 5 % de probabilidade de erro, apenas os flavanóis catequina e procianidina B1 apresentaram valores de *r* positivo ( $p < 0,05$ ) de 0,42 para o método β-caroteno/ácido linoleico.

Considerando a ação dos compostos fenólicos individuais analisados e a fraca correlação verificada com a atividade antioxidante nos extratos obtidos em extração supercrítica sugere-se que outros compostos químicos não identificados neste trabalho podem ter contribuído para a atividade antioxidante destes extratos.

Os coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre compostos fenólicos e as atividades antioxidantes com DPPH, ABTS e β-caroteno/ácido linoleico nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas estão apresentados na Tabela 32.

Para o método DPPH os compostos fenólicos individuais analisados que apresentaram valores de *r* positivos ( $p < 0,01$ ) foram o flavanol rutina ( $r = 0,45$ ) e o ácido fenólico benzóico ( $r = 0,50$ ).

**Tabela 32:** Correlação de Pearson entre os compostos fenólicos quantificados e a atividade antioxidante nas extrações assistidas por enzimas.

FENÓLICOS	DPPH		ABTS		β-caroteno	
	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>
<b>FLAVANOIS</b>						
Catequina	0,38*	0,02	0,27	0,11	-0,22	0,19
Procianidina B2	0,41*	0,01	0,17	0,31	-0,52**	0,00
<b>FLAVONÓIS</b>						
Rutina	0,45**	0,01	0,17	0,31	-0,42*	0,01
<b>ÁC.FENÓLICOS</b>						
Ácido gálico	0,03	0,86	0,02	0,93	0,09	0,61
Ácido cinâmico	0,04	0,80	0,06	0,74	0,43**	0,01
Ácido <i>p</i> -cumárico	0,29	0,09	0,02	0,89	-0,49**	0,00
Ácido benzoico	0,50**	0,00	0,06	0,73	-0,45**	0,00
TFT	0,53**	0,00	0,24	0,16	-0,86**	0,00

*Prob.* = probabilidade; TFT = teor de fenólicos totais. \* Correlações significativas a 5% de probabilidade de erro ( $p < 0,05$ ). \*\*Correlações significativas a 1% de probabilidade de erro ( $p < 0,01$ ).

Observa-se que os compostos fenólicos individuais analisados não apresentaram correlações significativas a 1% de probabilidade com as atividades antioxidantes determinadas pelo método ABTS.

Apenas o ácido fenólico cinâmico apresentou valor de *r* positivo ( $p < 0,01$ ) de 0,43 para o método β-caroteno/ácido linoleico.

Os métodos ABTS e β-caroteno/ácido linoleico não apresentaram correlações significativas a 1% com o teor de fenólicos totais.

A correlação obtida entre o método de medição de atividade antioxidante DPPH e o teor de fenólicos totais foi positiva e significativa a 1 %, e apresentou valor de 0,53.

Essas correlações indicam que o grupo dos ácidos fenólicos, especialmente ácido benzoico e cinâmico, possui importante função na atividade antioxidante para os extratos obtidos em extração assistida por enzimas.

O flavanol procianidina B2 apresentou valor de *r* positivo ( $p < 0,01$ ) de 0,44 para o teor de fenólicos totais.



## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O resíduo agroindustrial do umbu com destaque para a sua casca é considerada uma matéria-prima viável para a obtenção de extratos utilizando diferentes métodos de extração devido à qualidade dos compostos que permanecem presentes neste descarte industrial.

Na secagem das cascas, o secador de bandejas foi mais eficiente do que a estufa porque permitiu reduzir a umidade da matéria-prima em menor tempo.

Os extratos de farinha de cascas de umbu mostraram que, em termos de rendimento os obtidos por meio de extração assistida por enzimas apresentaram valores superiores aos das extrações à baixa pressão sem uso de enzimas e extração supercrítica.

A extração assistida por ultrassom com hexano proporcionou extratos com maior teor de fenólicos totais e maior atividade antioxidante medida pelos métodos de captura radical DPPH e de inibição do radical ABTS.

Na determinação da atividade antioxidante pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico a maior atividade antioxidante foi obtida com a extração supercrítica (400 bar/55 °C).

A análise de componentes principais conseguiu separar bem os extratos obtidos com solventes de baixas polaridades dos de altas, evidenciou que a pressão de 400 bar nas temperaturas testadas de 35 e 45 °C, contribuiu para uma maior extração de compostos fenólicos e maiores atividades antioxidantes pelo método ABTS e ainda separou bem os tratamentos de extração assistida por enzimas em função dos rendimentos, compostos e atividades avaliadas, fornecendo uma visão geral sobre o efeito do tempo em reação e da concentração do preparado enzimático utilizado na extração de compostos bioativos das cascas de umbu.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência identificou pela primeira vez nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas, os flavanóis catequina, epicatequina galato, epigallocatequina galato, procianidina B1 e procianidina B2; os ácidos fenólicos gálico, cinâmico, *o*-cumárico, *p*-cumárico, benzóico e siringico; os flavonóis *kaempferol*, quercetina piranosídeo, isoramnetina, rutina e miricetina e o estilbeno *trans*-resveratrol.

Nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração supercrítica identificou pela primeira vez, os flavanóis catequina,

epicatequina e procianidina B1; os ácidos fenólicos cinâmico, *o*-cumárico, *p*-cumárico e benzóico e o estilbeno *trans*-resveratrol.

Nos extratos de farinha de cascas de umbu obtidos em extração assistida por enzimas identificou pela primeira vez os flavánois catequina, procianidina B1 e procianidina B2; os ácidos fenólicos gálico, cinâmico, *p*-cumárico e benzóico e os flavonol rutina.

Os compostos fenólicos individuais analisados apresentaram correlações significativas a 1% e a 5% de probabilidade com as atividades antioxidantes determinadas pelos três métodos empregados (DPPH, ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico).

## 6. CONCLUSÕES

As cascas de umbu são ricas em compostos bioativos, dentre os quais compostos fenólicos, como puderam ser confirmados pela análise de cromatografia líquida de alta eficiência que identificou vários deles, com destaque para procianidina B2, ácido *para*-cumárico, quercetina e *trans*-resveratrol. Os compostos fenólicos foram diretamente responsáveis pelas atividades antioxidantes dos extratos. Os extratos obtidos à baixa pressão sem uso de enzimas apresentaram a maioria dos compostos identificados, mas epicatequina só foi constatada na extração supercrítica e a extração assistida por enzimas evidenciou ácido gálico. Em vista do que foram encontrados neste estudo, as cascas de umbu são potenciais fontes naturais de substâncias bioativas que podem ser explorados pela indústria de alimentos e farmacêutica.





## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A continuidade deste trabalho é de suma importância, para que se possam compreender melhor os fenômenos envolvidos neste trabalho.

Considerando a parte inicial do trabalho poderiam ser avaliados diferentes pré-tratamentos para as cascas de umbu buscando maior facilidade de extração dos compostos de interesse. Além de poder trabalhar com as demais partes do fruto (polpa e sementes).

Estudo de extrações à baixa pressão sem uso de enzimas utilizando misturas de solventes, a extração assistida por ultrassom com diferentes frequências, temperaturas e razão de solventes, e também seria interessante considerar o estudo da extração por micro-ondas, que está se difundido nas pesquisas.

Estudar outras condições de cinética, investigando a influência de parâmetros operacionais, como vazão de solvente, pressão e diâmetro de partícula.

Os dados de extração supercrítica com mais alguns experimentos possibilitam a criação de modelos matemáticos que representem os fenômenos envolvidos na extração, além da possibilidade de ajuste das curvas a modelos já existentes na literatura.

Uso de co-solventes na extração supercrítica.

Avaliação da composição dos extratos através de outras técnicas cromatográficas.

Uso da análise HPLC para a determinação de outros compostos citados na literatura como antioxidantes, como os carotenoides e os ácidos orgânicos.

Avaliação de custos de processo para extração a baixa pressão sem o uso de enzimas versus supercrítica versus assistida por enzimas.

Realização de testes para avaliar o sinergismo entre extratos de cascas de umbu obtidos por diferentes tipos de extração e outros antioxidantes, como BHA, por exemplo.

Desenvolvimento de um produto alimentício com a aplicação dos extratos de cascas de umbu obtidos e posterior análise sensorial.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUD, A. K. S.; NARAIN, N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 257-265, 2009.

AGHEL, N.; YAMINI, Y.; HADJIAKHOONDI, A.; POURMORTAZAVI, S. M. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. **Talanta**, v. 62, n. 2, p. 407-411, 2004.

AJILA, C. M.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1006-1011, 2007.

ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; MAFRA, L. I. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151-158, 2014.

ALI, S. S., KASOJU, N., LUTHRA, A., SINGH, A., SHARANABASAVA, H., SAHU, A., BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v. 41, n. 1, p. 1-15, 2008.

ALMEIDA, C.; BRÁNYIK, T.; MORADAS-FERREIRA, P.; TEIXEIRA, J. Use of two different carriers in a packed bed reactor for endopolygalacturonase production by a yeast strain. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1937-1942, 2005.

ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; CARVALHO, C. E.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; FONSECA, L.; MAGALHÃES, C. E. C.; LOPES, M. F. G.; LEMOS, T. L. G. Avaliação de macro e microminerais em frutas tropicais cultivadas no nordeste

brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 581-586, 2009.

ALMEIDA, P. P.; FERREIRA, S. R. S. Crossover pressure for supercritical fluid extraction of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil with pure CO<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> plus ethanol. In: I Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA). Foz do Iguaçu, **Caderno de Resumos** do PROSCIBA, 2007.

ALONSO-SALCES, R. M.; HERRERO, C.; BARRANCO, A.; BERRUETA, L. A.; GALLO, B.; VICENTE, F. Classification of apple fruits according to their maturity state by the pattern recognition analysis of their polyphenolic compositions. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 113-123, 2005.

AMENSOUR, M., SENDRA, E., ABRINI, J., PÉREZ-ALVAREZ, J. A., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Antioxidant activity and total phenolic compounds of myrtle extracts. **Journal of Food**, v. 8, n. 2, p. 95-101, 2010.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; DE REUCK, K. M. International thermodynamic tables of the fluid state: Carbon dioxide. Oxford: **Pergamon Press**, 1976.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists - **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2005.

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable fruits commonly consumed in Brazil and estimated ingestion

by the brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 52, n. 5, p. 1124-1131, 2004.

ARAGÃO, R.F.; ASINA, O.L.S.; GUEDES, A.M. Estudo experimental da secagem de fatias de caju. **Alimentos Ciencia e Ingeniería**, v. 16, n. 3, p. 302-307, 2007.

ARAÚJO, F. P.; SANTOS, C. A. F. Substituição de copa do umbuzeiro por algumas espécies do gênero *Spondias*. XXVIII Reunião Nordestina de Botânica, Petrolina, **Resumos...** 2004.

ARNOUS, A.; MEYER, A. S. Discriminated release of phenolic substances from red wine grape skins (*Vitis vinifera L.*) by multicomponent enzymes treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 49, n. 1, p. 68–77, 2010.

AZEVEDO, L. C.; SILVA, I. R. A.; ARAUJO, A. J. B.; OLIVEIRA, S. B.; AZOUBEL, P. M. Caracterização físico-química da farinha da casca de manga cv. *Tommy atkins*. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos e XV Seminário Latino Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2008, Belo Horizonte. **Anais do XXI CBCTA e XV SLACTA**, 2008.

BAGGER-JORGENSEN, R.; MEYER, A. S. Effects of different enzymatic pre-press maceration treatments on the release of phenols into blackcurrant juice. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 6, p. 620–629, 2004.

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

BASTOS, D. H. M.; SALDANHA , L. A.; CATHARINO, R. R.; SAWAYA, A. C. H. F.; CUNHA, I. B. S.; CARVALHO, P. O.; EBERLIN, M. N. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules** v. 12, n. 3, p. 423-432, 2007.

BE-JEN, W.; YEN-HUI, L.; ZER-RAN, Y. Supercritical fluid extractive fractionation: study of the antioxidant activities of propolis. **Food Chemistry**, v. 86, n. 2, p. 237-243, 2004.

BENELLI, P.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA, A. J.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 132-141, 2010.

BISCAIA, D.; FERREIRA, S. R. S. Propolis extracts obtained by low pressure methods and supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, p. 17-23, 2009.

BRAINER, M. S. C. P.; CARNEIRO, W. M. A.; SANTOS, J. A. N.; SOUZA, G. S.; SILVA, C. E. G. A agroindústria de alimentos de frutas e hortaliças no Nordeste e Norte dos Estados de Minas Gerais e Espírito Santo. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL - SOBER, 46, Rio Branco. **Anais**. São Paulo: SOBER, (CD-ROM), 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o “Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos”.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

BURIN, V. M.; FERREIRA-LIMA, N. E.; PANCERI, C. P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Bioactive compounds and antioxidant

activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, v. 114, p. 155-163, 2014.

CAMPOS, C. O. **Frutos de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda): características físico-químicas durante seu desenvolvimento e na pós-colheita**. 2007. 113f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

CAMPOS, L. M. A. S.; LEIMANN, F. , V.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from *Cabernet sauvignon* (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8413-8420, 2008.

CAMPOS, L. M. A. S.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 34, p. 163-170, 2005.

CANUTO, K. M; SOUZA NETO, M. A; GARRUTI, D. A. Composição química volátil, em diferentes estádios de maturação, de manga 'Tommy Atkins' produzida no vale do São Francisco. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2377-2381, 2009.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa, 2006. v. 2, 627p.

CARVALHO JUNIOR, R. N.; MOURA, S. L.; QUISOE-CONDORI, S.; ROSA, P. T. V.; MING, L. C.; MEIRELES, M. A. A. Determination of the global yield isotherms for the system rosemary (*Rosmarinus officinalis*) + CO<sub>2</sub> . **Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids**, p. 129-134, Versailles - França, 2003.

CATANEO, C. B.; CALLARI, V.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Ciências Agrárias**. v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. 2<sup>a</sup> ed. revista e ampliada, Lavras: UFLA, 2005.

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. **Tecnologia enzimática**. EPUB, FAPERJ, Petrópolis, RJ, 2008.

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

CORRÊA, L. C. ; BIASOTO, A. C. T. ; PEREIRA, G. E. ; SILVA, P. T. S. E. ; RYBKA, A. C. P. . Determinação de compostos fenólicos em vinhos produzidos na região do submédio do vale do são francisco por cromatografia líquida de alta eficiência (clae). In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012, Florianópolis- SC. **Livro de Resumos**, 2012. p. 321.

COSTA, A. R. S. **Sistema de secagem solar para frutos tropicais e modelagem da secagem de banana em um secador de coluna estática**. 2008. 169f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

COSTA, N. P.; LUZ, T. L. B.; GONÇALVES, E. P.; BRUNO, R. L. Caracterização físico-química de frutos de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.), colhidos em quatro estádios de maturação. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 20, n. 2, p. 65-71, 2004.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULIO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v. 43, n. 4, p. 348-361, 2007.

DANTAS JÚNIOR, O. R.; ALVES, R. E.; SILVA, S. M.; LIMA, M. A. C.; ARAGAO, F. A. S.; SOARES, D. J.; SOUZA, M. C.; RUFINO, M. S. M. Atividade antioxidante total em frutos de diferentes genótipos de umbuzeiro oriundos de Petrolina, PE. in: LIV Reunião Anual da ISTH,



2008, Vitória, ES. Frutas para todos: estratégias, tecnologias e visão sustentável. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, v. I. p. 272, 2008.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUES, H.; PARAJÓ, J. C. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction and purification of compounds with antioxidant activity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 54, n. 7, p. 2441-2469, 2006.

DORMAN, H. J. D.; PELTOKETO, A.; HILTUNEN, R.; TIKKANEN, M. J. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected mamiaceae herbs. **Food Chemistry**, v. 83, n. 2, p. 255-262, 2003.

DUBOST, N. J.; OU, B.; BEELMAN, R. B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated ushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 727-735, 2007.

DUQUE, J. C. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 4<sup>a</sup> ed. Banco do Nordeste do Brasil. Fortaleza, 2004. 330p.

EHALA, S.; VAHER, M.; KALJURAND, M. Characterization of phenolic profiles of Northern European berries by capillary electrophoresis and determination of their antioxidant activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 16, p. 6484-6490, 2005.

FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. U.; CARDOSO, R. L.; MACHADO, S. S.; ROCHA, A. S.; LIMA, R. R. Aproveitamento industrial do umbu: processamento de geleia e compota. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1308-1314, 2003.

FONSÊCA, S. G. C. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. Departamento de Farmácia, UFC, 2005. 64p.

GAVA, J. A.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, p. 93-97. 2010.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. *Publicatio UEPG, Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GOLEBIEWSKI, M.; MALINSKI, E.; SZANKIN, M.; ARSZENIUK, M.; PASZKIEWICZ, M.; STEPNOWSKI, P. Determination of catechin and epicatechin in the peel of apple varieties resistant and non-resistant to apple scab. *Chemical Papers*, v. 64, n. 6, p. 729-733, 2010.

GOMES, E.; GUEZ, M. A. U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. *Química Nova*, v. 30, n. 1, p.136-145, 2007.

GOMES, E. B.; RAMALHO, S. A.; GUALBERTO, N. C.; MIRANDA, R. C. M.; NIGAM, N.; NARAIN, N. A rapid method for determination of some phenolic acids in brazilian tropical fruits of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) and umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Camara) by UPLC. *Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation*, v. 3, n. 3, p. 1-10, 2013.

GU, Z.; CHEN, D.; HAN, Y.; CHEN, Z.; GU, F. Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides*. *LWT- Food Science and Technology*, v. 41, n. 6, p. 1082–1088, 2008.

HASSIMOTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 53, n. 8, p. 2928-2935, 2005.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. Sub and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. *Food Chemistry*, London, v. 98, n. 1, p. 136-148, 2006.

HERRERO, M.; MENDIOLA, J.A.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Supercritical fluid extraction: recent advances and applications. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, n. 16, p. 2495-2511, 2010.

HU, Q.; HU, Y.; XU, J. Free radical-scavenging activity of Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller) extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**. v. 91, n. 1, p. 85-90, 2005.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Produção Extrativa Vegetal. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/extveg/default.asp?t=2&z=t&o=18&u1=1&u2=1&u3=1>, acessado em: 17/11/2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4ª ed., 1ª Ed. Digital, São Paulo: 2008.

JACQUES, R. A.; FREITAS, L. S.; PÉRES, V. F.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J. V.; CARAMÃO, E. B. Chemical composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*): a study of extraction methods. **Journal of Separation Science**, v. 29, p. 2780-2784, 2006.

JAYAPRAKASHA, G. K.; NEGI, P. S.; JENA, B. S.; RAO, J. M. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, CA, v.20, n. 3-4, p.330-336, 2007.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 193-202, 2005.

KANG, H. J.; CHAWLA, S. P.; JO, C.; KWON, J. H.; BYUN, M. W. Studies on the development of functional powder from citrus peel. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 4, p. 614-620, 2006.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolics compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.

KHAJEH, M., YAMINI, Y., SEFIDKON, F., BAHRAMIFAR, N. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydro-distillation methods. **Food Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 587-591, 2004.

KIOKIAS, S.; VARZAKAS, T.; OREOPOULOU, V. *In vitro* activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 48, n. 1, p. 78-93, 2008.

KITZBERGER, C. S. G.; SMÂNIA, A. J.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 2, p. 631-638, 2007.

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

LANDBO, A. K.; MEYER, A. S. Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice. **Innovative Food Science Emerging Technology**, v. 5, n. 4, p. 503-513, 2004.

LEAL, A. F.; SOUZA, V. A. B.; GOMES, J. M. A. Condições do extrativismo e aproveitamento das frutas nativas na microrregião de Teresina, Piauí. **Revista Ceres**, v. 53, n. 310, p. 511-513, 2006.

LEAL, P. F.; BRAGA, M. E. M.; SATO, D. N.; CARVALHO, J. E.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. M. Functional properties of spices extracts obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 9, p. 2520-2525, 2003.

LEAL, P. F.; MAIA, N. B.; CARMELLO, Q. A. C.; CATHARINO, R. R.; EBERLIN, M. N.; MEIRELES, M. A. A. Sweet-basil (*Ocimum basilicum*) extracts obtained by supercritical fluid extraction (SFE):

global yields, chemical composition, antioxidant activity, and estimative of cost of manufacturing. **Food and Bioprocess Technology**, v. 1, n. 4, p. 326-338, 2008.

LEWICKI, P. P.; PAWLAK, G. Effect of drying on microstructure of plant tissue. **Drying Technology**, v. 21, n. 4, p. 657-683, 2003.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, v. 37, p.731-8, 2004.

LIMA FILHO, J. M. P. **Ecofisiologia do umbuzeiro (*Spondias tuberosa*, Arr. Cam.)**. Embrapa Semiárido, Petrolina. (Documentos, 240). ISSN 1808-9992. 2011. 24p.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 338-343, 2002.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; SILVA, G. S. B.; LIMA, D. E. S. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 53-57, 2004.

LIRA JÚNIOR, J. S.; MUSSER, R. S.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LEDERMAN, I. E.; SANTOS, V. F. Caracterização física e físico-química de frutos de cajá-umbu (*Spondias spp*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 757-761, 2005.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41-7, 2003.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Atividade antioxidante do extrato de sementes de limão (*Citrus limon*) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 946-949, 2009.

MA, Y.; YE, X.; FANG, Z.; CHEN, J.; XU, G.; LIU, D. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of *Sastsuma mandarin* (*Citrus unshiu* Marc.) peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5682-5690, 2008.

MALACRIDA, C. R.; ANGELO, P. M.; ANDREO, D.; JORGE, N. Composição química e potencial antioxidante de extratos de sementes de melão amarelo em óleo de soja. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n. 4, p. 372-376, 2007.

MARIANO, R. G. B.; COURI, S.; FREITAS, S. P. Enzymatic technology to improve oil extraction from caryocar brasiliense camb (pequi) pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 3, p. 637-643, Setembro, 2009.

MARIOD, B. A., IBRAHIM, R. M., ISMAIL, M., ISMAIL, N. Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. **Food Chemistry**, v. 118, p. 120–127, 2009.

MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; LEITE, A. V.; DRAGANO, N. R. V. Supercritical fluid extraction and stabilization of phenolic compounds from natural sources - review. **Open Chemical Engineering Journal**, v. 4, p. 51-60, 2010.

MARSHALL, D. A.; S.J. STRINGER, S. J.; SPIERS, J. D. Stilbene, ellagic acid, flavonol, and phenolic content of muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.) cultivars. **Pharmaceutical Crops**. v. 3, p. 69-77, 2012.

MARTÍNEZ, J.; ROSA, P. T. V; MENUT, C.; LEYDET, A.; BRAT, P.; PALLET, D.; MEIRELES, M. A. A. Valorization of brazilian vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash ex Small) oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, n. 21, p. 6578-6584, 2004.

MATTHÄUS, B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3444-3452, 2002.

MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Estabilidade do néctar misto de cajá e umbu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 787-792, 2007.

MELECCHI, M. I. S.; PÉRES, V. F.; DARIVA, C.; ZINI, C. A.; ABAD, F. C.; MARTINEZ, M. M.; CARAMÃO, E. B. Optimization of the sonication extraction method of *Hibiscus tiliaceus* L. flowers. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 13, p. 242-250, 2006.

MELLOU, F.; LAZARI, D.; SKAL TSA, H.; TSELEPIS, A. D.; KOLISIS, F. N.; STAMATIS, H. Biocatalytic preparation of acylated derivatives of flavonoid glycosides enhances their antioxidant and antimicrobial activity. **Journal of Biotechnology**, v. 116, n. 3, p. 295-304, 2005.

MELO, E. A.; ANDRADE, R. A. M. S. Compostos bioativos e potencial antioxidante de frutos do umbuzeiro. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 453-457, 2010.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R.. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; CINTIA, S.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, Massachusetts, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; GARCÍA-PARILLA, M. C; TRONCOSO, A. M. Antioxidants compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia Emarginata*, D.C.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 282-290, 2008.

MEZZOMO, N. MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 1, p. 10-16, 2009.

MICHIELIN, E. M. Z.; BRESCIANI, L. F. V.; DANIELSKI, L.; YUNES, R.; FERREIRA, S. R. S. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 33, n. 1, p. 131-138, 2005.

MICHIELIN, E. M. Z.; SALVADOR, A. A.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA-JR, A.; SMÂNIA, E. F.A.; FERREIRA, S. R. S. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6615-6623, 2009.

MILLER, A.; SCHAAL, B. Domestication of a mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. **Proceedings** of the National Academy of Science of the United States of America, v.102, p.12801-12806, 2005.

MONRAD, J. K.; HOWARD, L. R.; KING, J. W.; SRINIVAS, K.; MAUROMOUSTAKOS, A. Subcritical solvent extraction of procyanidins from dried red grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4014-4021, 2010.

MONTEIRO, S. Fruta para beber. **Frutas e derivados**, São Paulo, n. 1, ed. 1, p. 28-31, 2006.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire**, v. 25, n. único, p. 31-46, 2003.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. Review. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.



NASCIMENTO, D. D.; CONTI, G. C.; LABATE, M. T. V.; GUTMANIS, G.; BERTOLLO, A. L. F.; ANDRADE, A.; BRAGATTO, J.; PAGOTTO, L. O.; DAMIN, P.; MOON, D. H.; LABATE, C. A. Modulating Miox2 expression in *Nicotiana tabacum* and impacts on genes involved in cell wall biosynthesis. **Bioenergia em revista: diálogos**, v. 2, n. 1, p. 60-84, 2012.

NOGUEIRA, A., MONGRUEL, C., OLIVEIRA, M. C., PASSOS, M., WOSIACKI, G. Avaliação da trituração e tratamentos enzimáticos na obtenção de suco de maçã por centrifugação. **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias**, v. 11, n. 3, p. 7-12, 2005.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO – UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA - UNICAMP, 2011. 161p.

OLIVEIRA, A. C., VALENTIM, I. B., SILVA, C. A., BECHARA, E. J. H., BARROS, M. P. D., MANO, C. M., GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 469-475, 2009.

OLIVIER, M. N., CERUTTI, E. C., TOMIM, G. C., FREITAS, M. B., ROTILI, M. C. C., GREGÓRIO, N. P. Aplicação da enzima pectinase na vinificação. **Arquivos de Ciência da Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 12, n. 2, p. 133-138, 2008.

OMENA, C. M. B.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G. S.; RABELO, L. A.; MANO, C. M.; BECHARA, E. J. H.; SAWAYA, A. C. H. F.; TREVISAN, M. T. S.; COSTA, J. G.; FERREIRA, R. C. S.; SANTANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**. v. 49, n. 1, p. 334-344, 2012.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos - Alimentos de origem animal**, Vol. 2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PALLET, D.; CABRAL, L.; MATTA, V.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; MENEZES, H. C.; ABREU, F. A. P.; DORNIER, M.; REYNES, M. Aplicação da tecnologia de membranas no processamento de sucos de frutas brasileiras. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 427-437, 2005.

PELIZER, L. H.; PONTIRRI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, Chile, v. 2, n. 1, p.118-127, 2007.

PENCHEV, P. I. **Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions**. 2010. 239f. Thèse (Doctorat en Mécanique, Energétique, Génie Civil, Procédés) - L'Université de Toulouse, Toulouse.

PEREDA, S.; BOTTINI, S. B.; BRIGNOLE, E. A. Fundamentals of Supercritical Fluids Technology. In: MARTÍNEZ, J. L. Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds. **CRC Press**, cap. 1, p. 1-21, 2008.

PERES, M. T. L. P.; LOPES, J. R. R.; SILVA, C. B.; CÂNDIDO, A. C. S.; SIMIONATTO, E.; CABRAL, M. R. P.; OLIVEIRA, R. M.; FACCO, J. T.; CARDOSO, C. A. L.; SIMAS, P. H. Phytotoxic and antioxidant activity of seven native fruits of Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 836-846, 2013.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 137-150, 2006.

PETISCA, C.; MELO, A.; PINHO, O.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. HPLC separation and quantification of catechins in green tea home prepared: comparison with commercial soft drinks. **Comunicação** apresentada no First Meeting of Young Researchers of Porto University, 2008.

PHILIPPI, S. T. **Pirâmide dos alimentos: Fundamentos básicos da nutrição**. Barueri-SP: Manole, 2008.

QU, W.; PAN, Z.; MA, H. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 1, p. 16–23, 2010.

RAMALHO, S. A.; GUALBERTO, N. C.; NETA, M. T. S. L.; BATISTA, R. A.; ARAÚJO, S. M.; MOREIRA, J. J. S.; NARAIN, N. Catechin and Epicatechin Contents in Wines Obtained from Brazilian Exotic Tropical Fruits. **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, n. 5, p. 449-457, 2014.

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

RATNAM, D.; ANKOLA, D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D.; KUMAR, M. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, n. 2, p. 189-207, 2006.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

REHMAN, Z.; HABIB, F.; SHAH, W. H. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. **Food Chemistry**, London, v. 85, n. 2, p. 215-220, 2004.

REVERCHON, E., DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, n. 2, p. 146-166, 2006.

RIBANI, R. H.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonols in fresh and processed brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 4, p. 263-268, 2009.

RIBEIRO, B. D.; COELHO, M. A. Z.; BARRETO, D. W. Obtenção de extratos de guaraná ricos em cafeína por processo enzimático e adsorção de taninos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas-SP, vol. 15, n. 3, p. 261-270, 2012.

RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. **Advances in fruit processing technologies**. CRC Press, 2012.

ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical technology in Brazil: system investigated (1994–2003). **Journal of Supercritical Fluids**. v. 34, n. 2, p. 109–117, 2005.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

RUSSELL, W. R.; LABAT, A.; SCOBIE, L.; DUNCAN, G. J.; DUTHIE, G. G. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 100-104, 2009.

SACHINDRA, N.M.; BHASKAR, N.; MAHENDRAKAR, N.S. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. **Waste Management**, v. 26, n. 10, p. 1092–1098, 2006.

SADEK, P. C. **The HPLC solvent guide**. 2<sup>nd</sup> edition, New York: Wiley-Interscience, 2002. 664p.

SALEM, J. H.; HUMEAU, C.; CHEVALOT, I.; HARSCOAT-SCHIAVO, C.; VANDERESSE, R.; BLANCHARD, F.; FICK, M. Effect of acyl donor chain length on isoquercitrin acylation and biological activities of corresponding esters. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 3, p. 382-389, 2010.

SALES, A. N.; BOTREL, N.; COELHO, A. H. R.; SIQUEIRA, H. H. Aplicação de 1-Metilciclopropeno em Banana "Prata-Anã" e seu Efeito sobre as substâncias pécicas e enzimas pectolíticas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 479-487, 2004.

SANTOS, A. B.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - EMBRAPA. Comunicado Técnico, n. 99, ISSN 1517- 2244, Belém, 2004.

SANTOS, C. T.; BONOMO, R. F.; FONTAN, R. C. I.; BONOMO, P.; VELOSO, C. M.; FONTAN, G. C. R. Characterization and sensorial evaluation of cereal bars with jackfruit. **Acta Scientiarum Technology**, v. 33, n. 1, p. 81-85, 2011.

SANTOS, E.; PIETRO, R. C. L. R. Production of cellulase, xylanase and beta-glucosidase in *Trichoderma reesei* to improve oil extraction. In: X Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática - ENZITEC, 2012, Blumenau. **Anais do X Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática - ENZITEC**, v. 1, 2012.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SATPATHY, G.; TYAGI, Y. K.; GUPTA, R. K. Preliminary evaluation of nutraceutical and therapeutic potential of raw *Spondia pinnata* K., an exotic fruit of India. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2076–2087, 2011.

SCHINOR, E. C.; SALVADOR, M. J.; TURATTI, I. C. C.; ZUCCHI, O. L. A. D.; DIAS, D. A. Comparison of classical and ultrasound-assisted extractions of steroids and triterpenoids from three *Chresta spp.* **Ultrasonics Sonochemistry**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 415-421, 2004.

SCHOUDHARI, S. M.; ANANTHANARAYAN, L. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. **Food Chemistry**, v. 102, p. 77–81, 2007.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como antioxidante.

**Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SHUI, A. G.; LEONG, L. P. Residue from star frit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 97, n. 2, p. 277-284, 2005.

SILVA, A. R. A.; MORAIS, S. M.; MARQUES, M. M. M.; LIMA, D. M.; SANTOS, S. C. C.; ALMEIDA, R. R.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F. Antiviral activities of extracts and phenolic components of two *Spondias* species against dengue vírus. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 17, n. 4, p. 406-413, 2011.

SILVA, F. V. G.; SILVA, S. M.; SILVA, G. C.; MENDONÇA, R. M. N.; ALVES, R. E.; DANTAS, A. L. Bioactive compounds and antioxidant activity in fruits of clone and ungrafted genotypes of yellow mombin tree. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n. 4, p.685-691, 2012.

SILVA, L. M. **Estudo da potencialidade dos resíduos de umbu, manga e goiaba como bioadsorventes**. 2012. 67f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

SILVA, L. R.; ALVES, R. E.; ARAGÃO, F. A. S.; SILVA, S. M.; MAIA, L. K.; NOGUEIRA, D. H. Qualidade de frutos de genótipos de umbu-cajazeiras (*Spondias* sp.) oriundos da Microrregião de Iguatu, CE. **Scientia Plena**, v. 7, p. 1-7, 2011.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC/Editora da UFRGS, v. 1, 2010. 1104p.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.;

BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-357, 2007.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; SILVA, A. O.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n. 3, p.554-559, 2011.

SPENCER, J. P.; ABD el MOHSEN, M. M.; MINIHANE, A. M.; MATHERS, J. C.; Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 12-22, 2008.

TOOR, R. K.; SAVAGE, G. P. Effect of semi-drying on the antioxidant components of tomatoes. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 94, n. 1, p. 90-97, 2006.

TRABELSI, N., MEGDICHE, W., KSOURI, R., FALLEH, H., OUESLATI, S., SOUMAYA, B., HAJLAOUI, H., ABDELLY, C. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, n. 4, p. 632-639, 2010.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

USHIKUBO, F. Y.; WATANABE, A. P.; VIOTTO, L. A. Effects of operating conditions and enzyme treatment on fouling and polarized layer formation during umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) juice microfiltration. **Desalination**, v. 200, n. 1-3, p. 546-548, 2006.

VIEIRA, P. A. F.; QUEIROZ J. H.; VIEIRA, B. C.; MENDES, F. Q.; BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; SANT'ANA, R. C. O.; MORAES, G. H. K. Caracterização química do resíduo do processamento agroindustrial da manga (*Mangifera indica* L.) Var. UBÁ. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara. v. 20, n. 4, p. 617-623, 2009.

WATANABE, C. H.; NOSSE, T. M.; GARCIA, C. A.; PINHEIRO, P. N.

Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, p.76-86, 2006.

YANG, Y.; ZHANG, F. Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 4, p. 308-313, 2008.

ZETZL, C.; LOZANO, G. A.; BRUNNER, G. Compilation of batch SFE-Models for natural products. *In: I Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA)*. Foz do Iguaçu, Paraná, **Caderno de Resumos do PROSCIBA**, 2007.

ZUO, Y.; WANG, C.; ZHAN, J. Separation, characterization, and quantitation of benzoic and phenolic antioxidants in american cranberry fruit by GC-MS. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3789-3794, 2002.



## APÊNDICE A: DADOS EXPERIMENTAIS DA CURVA DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

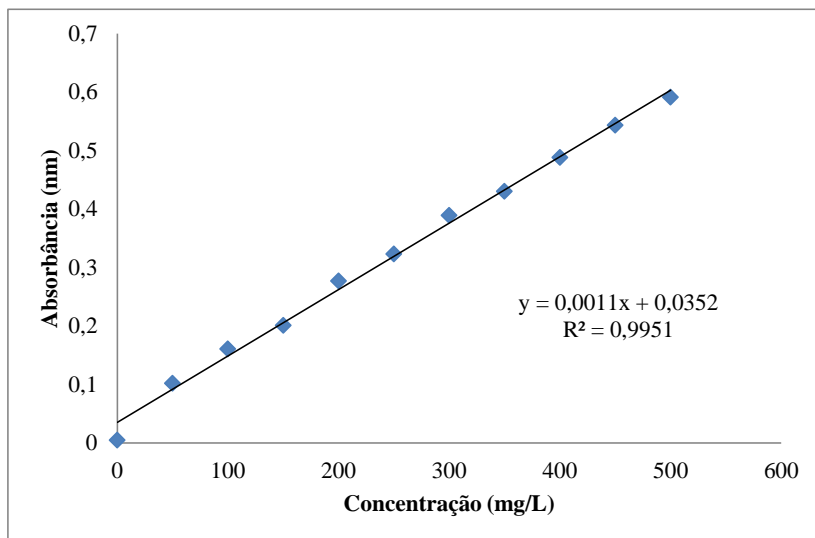
**Tabela 33:** Tempos de extração, massas de extrato, massas de extrato acumuladas e rendimentos ( $X_0$ ) do experimento cinético a 200 bar, 45° C e  $1,0 \pm 0,1$  kg CO<sub>2</sub>/h.

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa (g)</b>	<b>Massa Acumulada (g)</b>	<b>X<sub>0</sub> (%)</b>
<b>0</b>	0,0000	0,0000	0,0000
<b>5</b>	0,0010	0,0010	0,6435
<b>10</b>	0,0010	0,0020	1,2870
<b>15</b>	0,0012	0,0032	2,0592
<b>20</b>	0,0007	0,0039	2,5097
<b>25</b>	0,0007	0,0046	2,9601
<b>30</b>	0,0005	0,0051	3,2819
<b>40</b>	0,0020	0,0071	4,5689
<b>50</b>	0,0019	0,0090	5,7915
<b>60</b>	0,0010	0,0100	6,4350
<b>90</b>	0,0013	0,0113	7,2716
<b>120</b>	0,0014	0,0127	8,1725
<b>150</b>	0,0018	0,0145	9,3308
<b>180</b>	0,0009	0,0154	9,9099
<b>210</b>	0,0011	0,0165	10,6178
<b>240</b>	0,0014	0,0179	11,5187
<b>300</b>	0,0021	0,0200	12,8700
<b>360</b>	0,0014	0,0214	13,7709
<b>420</b>	0,0003	0,0217	13,9640



## APÊNDICE B: CURVA ANALÍTICA DE ÁCIDO GÁLICO

**Figura 21:** Curva analítica de ácido gálico utilizada na determinação do teor de fenólicos totais, a 765 nm.





## APÊNDICE C: CURVA ANALÍTICA DE TROLOX

**Figura 22:** Curva analítica de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante dos extratos de farinha de cascas de umbu.

