

Aline Elias dos Santos

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO JAMBOLÃO  
(*Syzygium Cumini* (L.) Skeels) A BAIXAS PRESSÕES E LIVRE DE  
SOLVENTE ORGÂNICO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

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

**Orientador:** Prof. Dr. Marcelo Lanza

Florianópolis  
2017

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

Santos, Aline Elias dos  
Extração de compostos bioativos do jambolão  
(*syzygium cumini* (L.) skeels) a baixas pressões e  
livre de solvente orgânico / Aline Elias dos Santos  
; orientador, Marcelo Lanza, 2017.  
108 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós  
Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis,  
2017.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Extrato aquoso.  
3. cromatografia líquida de alta eficiência. 4.  
atividade antioxidante. 5. antocianinas. I. Lanza,  
Marcelo. II. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de  
Alimentos. III. Título.

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO JAMBOLÃO  
(*Syzygium Cumini* (L.) Skeels) A BAIXAS PRESSÕES E LIVRE DE  
SOLVENTE ORGÂNICO**

Por

**Aline Elias dos Santos**

Dissertação julgada para obtenção do Título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos na 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. Marcelo Lanza  
Orientador

---

Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Marcelo Lanza

---

Dr<sup>a</sup>. Simone Mazzutti

---

Prof. Dr. Haiko Hense

---

Dr<sup>a</sup>. Isabela Maia Toaldo

Florianópolis, de março de 2017.



*À Deus ofereço com gratidão pelo privilégio;  
Aos meus.*



## AGRADECIMENTOS

Será impossível listar o nome de tantas pessoas, as quais devo gratidão. No entanto, não posso deixar de agradecer algumas pessoas nesta fase da minha vida.

A Deus, por me guiar em todos os caminhos, iluminar meus pensamentos e me abençoar nesse trajeto.

Aos meus pais, José e Maria, pela educação e pelo amor incondicional, fundamentais na construção do meu caráter. Por acreditarem em mim e na capacidade de realizar meus sonhos.

Aos meus irmãos, Walisson e Adrielle, por toda paciência e incentivo.

Ao Prof. Dr. Marcelo Lanza, pela orientação e dedicação na elaboração deste trabalho.

Aos amigos pela convivência, ajuda e troca de experiências, em especial Gean, Camilinha, Heloísa, Talyta, Rafaela, Santiago, Ana, Renata e Valdinei, que sempre estavam dispostos a me ajudar não importando as circunstâncias.

Aos “Chegados”.

Aos voluntários e iniciação científica, Lorenzo, Gabriel, Roberto, Lucas e Juliane por contribuírem na realização deste trabalho.

Ao PPGEAL/UFSC, pela oportunidade de cursar o mestrado e aos professores do PPGEAL por todos os ensinamentos.

À Capes pelo suporte financeiro.

À coordenação de engenharia de alimentos, em especial à Jeovanna, sempre gentil e prestativa.

À banca examinadora, pelas contribuições e atenção dedicadas ao aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos laboratórios parceiros, Laboratório de Controle de Processos, Central de Análises do EQA e Laboratório de Bioquímica de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos que disponibilizaram os equipamentos necessários para as demais análises.

Agradeço a todos do LATESC, por tornarem o ambiente de trabalho um local agradável, por compartilharem seus conhecimentos, e pelo auxílio durante a fase de adaptação.

*Meus sinceros agradecimentos.*





E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.

1º Coríntios 13:2.



## RESUMO

Evidências científicas sugerem que compostos fenólicos obtidos através da dieta são responsáveis pelos benefícios à saúde como: aumento da resistência ao estresse oxidativo, processos inflamatórios, disfunções endoteliais, funções vasculares e plaquetárias; pressão sanguínea e perfil lipídico. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi a aplicação de métodos de extração, sem uso de solventes orgânicos, para obtenção de extratos de jambolão ricos em compostos bioativos. Os maiores rendimentos de extração foram obtidos pelo método sólido-líquido convencional. O maior teor de compostos fenólicos dos métodos de extração avaliados foi encontrado para o extrato do jambolão liofilizado, obtido por extração sólido-líquido convencional (ensaio 6: 9g/ 30 °C/ 5 h) com 5763 EAG/100 g de extrato. O menor valor de EC50 ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) (concentração de extrato que neutraliza 50 % dos radicais livres), determinado pelo método do radical DPPH, também foi obtido por um extrato do fruto liofilizado, mas, dessa vez, para a extração sólido-líquido assistida por ultrassom ( $71,80 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  - EC50). O maior valor da atividade antioxidante por FRAP foi  $19819,14 \mu\text{mol}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de extrato, para o extrato proveniente do método sólido-líquido convencional para a amostra liofilizada. Os compostos identificados pela análise de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) em um maior número de amostras foram: carvestreno e canfeno. Os compostos quantificados pela análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando detector de arranjo de diodo, em um maior número de amostras foram: catequina, tirosol e epicatequina. O potencial das propriedades terapêuticas encontradas para os extratos aquosos de jambolão levam a importantes resultados que possibilitam a posterior aplicação desses compostos, como encapsulamento e avaliação *in vivo*.

**Palavras-chave:** Extrato aquoso, jambolão, *Syzygium cumini*, Cromatografia Gasosa, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, antocianinas.



## ABSTRACT

Research suggests that phenolic compounds obtained in diet are usually associated with health benefits, such as: Increase on the oxidative stress resistance, inflammatory processes, endothelial dysfunctions, cardiovascular and platelet functions; blood pressure and lipid profile. Realizing it, the objective of this work was the application of the extraction methods without organic solvents, for the obtainment of jambolan extracts rich in bioactive substances. The highest yields were achieved by the liquid-liquid extraction, also the highest level of organic compounds, considering all the evaluated extraction methods, was obtained by the solid-liquid extraction (test 6- 9g/ 30 °C/ 5 hours) with 5763 EAG/100 g of extract. The lowest value of EC<sub>50</sub> (extract concentration which neutralises 50% of free radicals) determined by the DPPH method was also presented by the lyophilised fruit, but the extraction process was assisted by ultrasound (71.80 EC<sub>50</sub>). The best value of antioxidant activity achieved by the FRAP method was of 19819.14 µmol/100g of extract, for the lyophilised sample using the regular solid-liquid extraction. The identified substances using the gas chromatography (CG-EM) in greater number of samples were the carvestrene and camphene. By high efficiency liquid chromatography (HPLC) analysis the substances higher quantified were catechin, tyrosol and epicatechin. The potential of therapeutic application of the jambolan aqueous extracts provide important data for posterior application of those substances, such as encapsulation and in vivo evaluation.

**Keywords:** Aqueous extract, jambolan, *Syzygium cumini*, gas chromatography, HPLC, anthocyanins.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore do jambolão em Florianópolis – SC.....	25
Figura 2 - Fruto do jambolão.....	26
Figura 3 - Estrutura química genérica dos flavonoides.....	29
Figura 4 - Estrutura básica das antocianinas.....	30
Figura 5 - Estrutura geral das antocianinas mais comuns.....	31
Figura 6 - Fluxograma das etapas iniciais realizadas. Coleta, higienização, pré-tratamento e caracterização das matérias-primas.....	37
Figura 7: Processo de descaroçamento do fruto do jambolão, a) fruto inteiro, b) polpa e casca e c) sementes.....	38
Figura 8 - a) estufa, b) amostras em processo de secagem em estufa.....	38
Figura 9 - a) liofilizador, b) amostras em processo de secagem em liofilizador.....	39
Figura 10 - Moinho utilizado e amostras obtidas, a) moinho, b) amostra da estufa moída e c) amostra liofilizada moída.....	39
Figura 11 – Diagrama de processo de extração por sólido-líquido percolado.....	43
Figura 12 - Processo de extração sólido-líquido convencional utilizado.....	44
Figura 13 – Equipamento utilizado no processo de extração sólido-líquido assistida por ultrassom.....	44
Figura 14 – Microscopia eletrônica de varredura das amostras de jambolão a) seco em estufa e b) liofilizado.....	53
Figura 15 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e de interação das variáveis massa, temperatura e ciclo de lavagem para a resposta teor de compostos fenólicos totais na extração sólido-líquido percolado da amostra liofilizada.....	65
Figura 16 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e de interação das variáveis massa, temperatura e tempo de extração para a resposta teor de compostos fenólicos totais na extração sólido-líquido convencional da amostra liofilizada.....	66
Figura 17 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e de interação das variáveis massa, temperatura e tempo de extração para a resposta teor de compostos fenólicos totais na extração SLU da amostra liofilizada.....	67
Figura 18 – Superfície de resposta para o fatores de entrada significativos na extração de compostos fenólicos totais por SLU na amostra liofilizada, temperatura e massa.....	69
Figura 19 – Gráfico de valores observados vs. valores preditos.....	69

Figura 20 - Curva padrão de ácido gálico utilizada no cálculo de compostos fenólicos totais dos extratos de jambolão.....	102
Figura 21 - Curva padrão de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método FRAP dos extratos de jambolão.....	102
Figura 22 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 3: 3g/50°C/0 ciclo – passagem única).....	103
Figura 23 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 7: 3g/50°C/5h).....	103
Figura 24 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido assistida por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h).....	104
Figura 25 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 2:9g/30°C/0 ciclo – passagem única).....	104
Figura 26 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 6: 9g/30°C/5h).....	105
Figura 27 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido assistido por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h).....	105
Figura 28 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 3: 3g/50°C/ 0 ciclo – passagem única).....	106
Figura 29 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 7: 3g/50°C/5h).....	106
Figura 30 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido assistida por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h).....	107
Figura 31 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 2:9g/30°C/0 ciclo – passagem única).....	107
Figura 32 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 6: 9g/30°C/5h).....	108
Figura 33 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido assistida por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h).....	108



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Grupo dos flavonoides, componentes individuais e fontes alimentares.....	29
Tabela 2 - Identificação da antocianina de cada estrutura referente a Figura 5.....	31
Tabela 3 - Níveis das variáveis independentes para Planejamento 2 <sup>3</sup> de secagem do jambolão.....	41
Tabela 4 – Delineamento composto central para as variáveis massa, temperatura, ciclo e tempo.....	42
Tabela 5 – Teor de umidade e substâncias voláteis do jambolão <i>in natura</i> e das amostras seca em estufa e liofilizada.....	51
Tabela 6 – Granulometria característica das amostras do jambolão nos diferentes pré-tratamentos.....	52
Tabela 7 – Teores de compostos bioativos e atividade antioxidante encontrados nas amostras seca em estufa e amostra liofilizada.....	54
Tabela 8 - Rendimentos das extrações (%) dos três diferentes métodos de extração das amostras seca em estufa e liofilizada.....	56
Tabela 9 - Análise de variância para o rendimento das extrações das amostras (seca em estufa e liofilizada) por sólido-líquido percolado, convencional e assistido por ultrassom.....	57
Tabela 10 - Teor de compostos fenólicos totais (CFT), expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG/100g de extrato) para os extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração.....	58
Tabela 11 - Teor de flavonoides totais (FT), expressos em mg/100 g de extrato, para os extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração.....	60
Tabela 12 - Teor de antocianinas totais (AT), expressos em mg/100g de extrato, para os extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração.....	61
Tabela 13 - Avaliação da atividade antioxidante dos extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração através do método DPPH e FRAP.....	62
Tabela 14 - Teor de compostos fenólicos totais (CFT), expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG/100g de extrato) para os extratos da amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração.....	64
Tabela 15 - Análise de variância para o teor de compostos fenólicos totais na extração por lixiviação para a amostra liofilizada.....	65
Tabela 16 - Análise de variância para o teor de compostos fenólicos totais na extração sólido-líquido convencional para a amostra liofilizada.....	66

Tabela 17 - Análise de variância para o teor de Compostos Fenólicos Totais na extração sólido-líquido assistida por ultrassom para a amostra liofilizada.....	68
Tabela 18 - Teor de flavonoides totais (FT), expressos em mg/100g de extrato para a amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração.....	70
Tabela 19 - Teor de antocianinas totais (AT), expressos em mg/100g de extrato para os extratos da amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração.....	71
Tabela 20 - Avaliação da atividade antioxidante dos extratos da amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração através do método DPPH e FRAP.....	72
Tabela 21 – Ensaio e leitura de CFT dos melhores extratos das amostra seca em estufa e liofilizada nos diferentes métodos de extração.....	73
Tabela 22 – Compostos identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas nos extratos de jambolão.....	75
Tabela 23 - Perfil de composição dos extratos de jambolão determinado por cromatografia líquida de alta eficiência em detector de arranjo de díodo.....	78

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
1.1 OBJETIVOS.....	22
1.1.1 Objetivo geral.....	22
1.1.2 Objetivos específicos.....	22
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>25</b>
2.1 JAMBOLÃO.....	25
2.1.1 Composição química do fruto.....	25
2.1.2 Atividade biológica do fruto.....	26
2.2 ESPÉCIES REATIVAS, OXIDANTES E COMPOSTOS FENÓLICOS.....	27
2.2.1 Compostos fenólicos.....	28
2.2.2 Flavonóides.....	28
2.2.3 Ácidos fenólicos.....	30
2.2.4 Taninos.....	30
2.2.5 Antocianinas.....	30
2.2.6 Capacidade Antioxidante.....	32
2.3 EXTRAÇÃO.....	32
2.3.1 Conceitos.....	32
2.3.1.1 Extratos.....	32
2.3.1.2 Processos Extrativos.....	32
2.3.1.3 Pré-tratamentos.....	33
2.3.2 Técnica.....	33
2.3.2.1 Extração.....	33
2.3.2.2 Sólido-Líquido Percolado.....	34
2.3.2.3 Sólido-líquido Convencional.....	34
2.3.2.4 Sólido-Líquido Assistida por Ultrassom.....	35
2.3.2.5 Solventes.....	35
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
3.1 MATÉRIA-PRIMA.....	37
3.2 SECAGEM EM ESTUFA.....	38
3.3 SECAGEM EM LIOFILIZADOR.....	39
3.4 MOAGEM E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	39
3.4.1 Teor de umidade e substâncias voláteis.....	41
3.4.2 Granulometria.....	40
3.4.3 Morfologia externa.....	41
3.5 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL.....	41
3.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	43
3.6.1 Extração sólido-líquido percolado (SLP).....	43
3.6.2 Extração sólido-líquido convencional (SLC).....	43

<b>3.6.3 Extração sólido-líquido assistida por ultrassom (SLU)</b> .....	44
<b>3.7 ANÁLISE DOS EXTRATOS</b> .....	45
<b>3.7.1 Rendimento das extrações (R)</b> .....	45
<b>3.7.2 Determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT)</b> .....	45
<b>3.7.3 Flavonóides totais (FT)</b> .....	46
<b>3.7.4 Antocianinas totais (AT)</b> .....	46
<b>3.7.5 Avaliação da atividade antioxidante (AA)</b> .....	47
3.7.5.1 Método 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).....	47
3.7.5.2 Método <i>Ferric Reducing Ability of Plasma</i> (FRAP).....	48
<b>3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	49
<b>3.9 DETERMINAÇÃO DO PERFIL QUÍMICO DOS EXTRATOS</b> .....	49
<b>3.9.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas</b> ...	49
<b>3.9.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</b> .....	50
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	51
<b>4.1 CARACTERÍSTICAS DAS MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS</b> ...	51
<b>4.1.1 Teor de umidade e substâncias voláteis</b> .....	51
<b>4.1.2 Caracterização da matéria-prima moída</b> .....	52
4.1.2.1 Granulometria.....	52
4.1.2.2 Microscopia eletrônica de varredura.....	52
4.1.2.3 Compostos bioativos e atividade antioxidante.....	53
<b>4.2 ANÁLISE DOS EXTRATOS</b> .....	55
<b>4.2.1 Rendimento das extrações</b> .....	55
<b>4.2.2 Análise dos extratos da amostra seca em estufa</b> .....	58
4.2.2.1 Teor de compostos fenólicos totais.....	58
4.2.2.2 Teor de flavonoides totais.....	59
4.2.2.3 Teor de antocianinas totais.....	60
4.2.2.4 Atividade antioxidante por DPPH e FRAP.....	61
<b>4.2.3 Análise dos extratos da amostra liofilizada</b> .....	63
4.2.3.1 Teor de compostos fenólicos totais.....	63
4.2.3.2 Teor de flavonoides totais.....	70
4.2.3.3 Teor de antocianinas totais.....	70
4.2.3.4 Atividade antioxidante por DPPH e FRAP.....	72
<b>4.3 PERFIL QUÍMICO DOS MELHORES EXTRATOS</b> .....	73
<b>4.3.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas</b> ...	74
<b>4.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</b> .....	77
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	81
<b>6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	83
<b>7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	85
<b>8 APENDICÊS</b> .....	101

## 1. INTRODUÇÃO

A espécie *Syzygium cumini* conhecida como jabolão é uma frutífera exótica da família Myrtaceae nativa da Índia, amplamente cultivada no Brasil como árvore ornamental e de sombra. Os frutos, assim como cascas, sementes e folhas são utilizados pela medicina popular para o tratamento de diabetes e diferentes distúrbios gastrointestinais (RUFINO, 2008; MIGLIATO et al., 2006; MERCADANTE, 2011). É um fruto que se destaca pelo alto teor de antocianinas, especialmente encontrados em sua casca, na fruta madura é cerca de 731mg/100g de peso fresco (SANTOS, 2015). Muitas propriedades medicinais têm sido atribuídas a esta planta, como atividade antioxidante, cicatrizante, antitumoral e antimicrobiana (CÉSPEDES et al., 2008; FLOEGEL et al., 2011; WANG; STONER, 2008).

Alimentos que contém compostos fenólicos totais e outros antioxidantes em sistemas experimentais (*in vitro*, estudos com animais, ensaios clínicos) mostram também efeitos anticancerígenos (CÉSPEDES et al., 2008; FLOEGEL et al., 2011; WANG; STONER, 2008; KAY; KROON; CASSIDY, 2009; SARI et al., 2012; FRANK; KÖHLER; SCHUCHMANN, 2012).

Os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde e com o meio ambiente, com isso as buscas por produtos naturais e com menor impacto ambiental crescem. Diante dessa realidade, as pesquisas no âmbito acadêmico, bem como no setor industrial, passaram a buscar processos alternativos que possam atender as demandas do mercado consumidor. Em destaque encontra-se a técnica de extração chamada “química verde”, aplicada aos produtos naturais. Dentro deste segmento, estão os processos que não geram poluentes químicos e nem degradam os compostos de interesse, como os processos de extração por ultrassom ou que fazem uso de altas pressões e fluidos no estado supercrítico (PRADO, 2003).

Alguns dos compostos naturais também são capazes de conservar alimentos, é o caso de substâncias com propriedades antioxidantes e antimicrobianas. A utilização desses compostos permite produzir alimentos com maior segurança à saúde de quem os ingere (JOANA GIL-CHÁVEZ et al., 2013; STARMANS; NIJHUIS, 1996).

Métodos tradicionais de extração, incluindo a extração com solventes orgânicos e a destilação a vapor, são bastante utilizados para a obtenção de extratos e óleos essenciais de diversas matrizes vegetais. Porém, estas técnicas geralmente envolvem altas temperaturas de processo, o que pode ocasionar alterações químicas e destruição de

compostos termossensíveis, assim como a perda de qualidade do extrato, tanto pelo uso da temperatura, quanto pelo uso dos solventes orgânicos. De maneira geral, os solventes não são incorporados ao produto final, sendo necessário a sua remoção, e além da geração dos resíduos durante o processo de remoção, alguns solventes são perigosos para o meio ambiente e tóxicos para os seres humanos e devem ser utilizados com cuidado (JOANA GIL-CHÁVEZ et al., 2013; STARMANS; NIJHUIS, 1996).

A complexidade química de um extrato, caracteriza o seu valor terapêutico, pois atuam de diversas maneiras, ao contrário dos produtos sintéticos que atuam de um único modo, relativo ao composto químico ativo (CORAZZA, 2002). Os compostos naturais são sensíveis a fatores externos, como luz, oxigênio e temperatura, assim, torna-se necessária a investigação de técnicas que preservem a integridade destes compostos frente à degradação (GOMES et al., 2011).

O estudo de extratos vegetais é de grande interesse acadêmico e industrial, visto o uso popular dos mesmos; desde os já conhecidos em hortifrúti quanto os ainda não comercializados; por causa das suas capacidades terapêuticas (SANCHES, 2004). Frente ao exposto, faz-se necessária a investigação de tecnologias que possibilitem a obtenção e o aproveitamento de extratos com qualidade biológica, devido à preocupação em utilizar cada vez mais técnicas e solventes ambientalmente amigáveis, como no caso das técnicas para obter os extratos de jambolão relatados neste trabalho.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Empregar métodos de extração a baixas pressões, utilizando água destilada como solvente, para a obtenção de extratos da casca e polpa de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) skeels), para aproveitar suas potencialidades como fonte de compostos antioxidantes.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar as características das amostras formadas pelos diferentes pré-tratamentos em termos de tamanho e morfologia;
- Comparar e avaliar, em termos de rendimento, potencial antioxidante e composição química, as técnicas de extração

(sólido-líquido percolado, sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistida por ultrassom), utilizando como solvente a água destilada;

- Avaliar, comparar e relacionar as condições e métodos de extração em relação ao seu potencial antioxidante, utilizando técnicas *in vitro* (método do radical DPPH e método FRAP) e pelo teor de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu;
- Determinar o teor de flavonoides e antocianinas totais dos extratos;
- Selecionar um ou mais extratos a partir dos resultados obtidos pelo teor de compostos fenólicos totais (para cada técnica de extração) e pelo potencial antioxidante;
- Identificar os compostos voláteis presentes nos melhores extratos, utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS) e;
- Quantificar as antocianinas e flavonoides por cromatografia líquida de alta eficiência em detector de camada de diodo (CLAE) dos melhores extratos encontrados para cada método de extração.





## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 JAMBOLÃO (*Syzygium cumini* (L.) skeels)

Originária da Índia a espécie *syzygium cumini* (L.) Skeels, popularmente conhecida no Brasil como azeitona roxa, jamelão e jambolão, é uma dentre as mais de 300 espécies pertencentes à família Myrtaceae. A *Syzygium* foi introduzida em muitos países tropicais pertencentes à África e à América Latina. No Brasil ela é encontrada em diversos estados das regiões norte, nordeste e sudeste (ARAÚJO, 2014; VEIGAS et al 2007; MORTON, 1987; ROSS, 1999; ALBERTON et al., 2001; MAHMOUD et al., 2001; GROVER et al., 2001).

As mirtáceas brasileiras geralmente não produzem madeiras valiosas, restringindo-se ao fornecimento de lenha. As espécies frutíferas que são exploradas comercialmente são goiaba, jabuticaba e pitanga, além disso tem grande número de espécies utilizadas para fins medicinais (71,4%) (CERQUEIRA, 2002).

O gênero *Syzygium* (sinônimo: *Eugenia*) possui 14 espécies, todas apresentam comprovado efeito fisiológico (ALBERTON et al., 2001). É uma árvore de copa frondosa e densa, mede de 15 a 20m de altura, com tronco geralmente tortuoso, como mostrado na Figura 1. É uma planta que adapta-se bem ao clima quente e úmido (RUFINO, 2008).

Figura 1 - Árvore do jambolão em Florianópolis - SC



Fonte: Autora, 2016.

### 2.1.1 Composição química dos frutos

O fruto maduro do jambolão apresenta em torno de 3 a 5cm de comprimento e 2cm de diâmetro (Figura 2), com cerca de 88% de umidade, 0,34% de cinzas, 0,30% de lipídios, 0,67% proteínas, 5,91% de acidez (ácido cítrico), 10,7% de carboidratos totais, 1% de açúcares redutores, 0,28% de fibra alimentar, 9,0 °Brix de sólidos solúveis totais e pH de 3,9. A vitamina em maior abundância é a vitamina C (VIZZOTTO, FETTER, 2009; TACO, 2011; AYYANAR, SUBASH-BABU, 2012).

Figura 2 - Fruto do jambolão



Fonte: Autora, 2016.

As árvores de jambolão entram em safra de janeiro a maio. Sua coloração, inicialmente branca, torna-se vermelha e posteriormente roxa no estágio maduro, quando despencam e acumulam-se no chão. Apesar dessa abundância, esses frutos, cuja semente fica envolvida por uma polpa carnosa e doce, mas adstringente, não são tradicionalmente consumidos como outras frutas popularmente comercializadas como por exemplo, goiaba, morango e uva.

No Brasil, o fruto é geralmente consumido *in natura* maduro e em outros países é processado na forma de compotas, licores, vinhos, vinagre, geleias, tortas, doces, entre outros (VIZZOTTO, FETTER, 2009).

### 2.1.2 Atividades biológicas do fruto

O jambolão é considerado uma importante fonte de compostos fenólicos em dietas alimentares (ARAÚJO, 2011).

As diferentes partes do jambolão são citadas na literatura por possuírem propriedades medicinais. Isso porque são encontradas substâncias químicas denominadas fitoquímicas ou compostos secundários no jambolão. Estes compostos são produzidos naturalmente pelas plantas para se protegerem do ataque de pragas e doenças (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Muitos destes fitoquímicos, como os flavonoides (antocianinas, quercetina, rutina, mirecetina com seus glicosídeos e os taninos hidrolisáveis) atuam na prevenção de certas doenças (ANGELO; JORGE, 2007; VIZZOTTO; FETTER, 2009). Assim como as outras partes da planta do jambolão, as folhas possuem substâncias com ação antidiabética, exercendo função hipoglicemiante, mimetizando as ações da insulina, regulando os níveis glicêmicos e influenciando no metabolismo e estoque de glicogênio hepático. Estudos mostram que o extrato das sementes de jambolão reduz danos no tecido cerebral de ratos diabéticos, além de apresentar atividade antifúngica e antibacteriana (GROVER; VATS; RATHI, 2000; VIKRANT et al., 2001; AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; PRINCE et al., 2003; CHANDRASEKARAN; VENKATESALU, 2004).

## 2.2 ESPÉCIES REATIVAS, ANTIOXIDANTES E COMPOSTOS FENÓLICOS

Radicais livres, também conhecidos como espécies reativas, são átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados em sua órbita externa, são compostos altamente instáveis e quimicamente muito reativos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). A geração de radicais livres constitui um processo contínuo e fisiológico, com importantes funções nos processos metabólicos. Os radicais livres são capazes de oxidar aleatoriamente moléculas biológicas essenciais como lipídios, proteínas, glicosídeos e ácidos nucleicos, o que resulta na perda de suas funções fisiológicas e indução de efeitos deletérios (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). Os radicais livres de maior importância biológica compreendem as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as espécies reativas de nitrogênio (ERN).

Muitas pesquisas têm mostrado que o consumo de alimentos com propriedades antioxidantes resultam em uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. Os estudos indicaram que doenças entre as quais aterosclerose, diabetes, artrite, câncer e problemas cardiovasculares, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio muito reativas, que estão

relacionadas aos processos de envelhecimento do organismo (BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; YILDIRIM; MAVI; KARA, 2002).

Assim, os antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, presentes em baixas concentrações frente a um substrato oxidável, retardam, reparam ou previnem a oxidação. Eles protegem as células inibindo as reações associadas à formação de radicais livres, impedindo a perda da integridade celular e, também, reparando os danos causados por esses radicais (HALLIWELL, 2007).

Dentre os antioxidantes naturais, destacam-se as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, que são os antioxidantes mais abundantes na alimentação humana (PODSEDEK, 2007).

### **2.2.1 Compostos fenólicos**

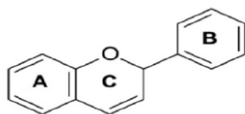
As frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha a azul, são as fontes mais importantes de compostos fenólicos em dietas alimentares, dos quais se conhecem mais de 4000 estruturas com atividades biológicas (AHERNE; O'BRIEN, 2002; MIRANDA, 2000).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em dois grupos: os flavonoides e os não flavonoides, sendo que ambos são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais. Os principais grupos dos compostos fenólicos de maior importância são os flavonoides, taninos, ácidos fenólicos e antocianinas (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004), que serão brevemente descritos a seguir. Dentro dos não flavonoides e na classe dos estilbenos, destaca-se o resveratrol, composto este estudado extensivamente desde a década de 1990, frente a evidências de suas propriedades bioativas como antioxidante, anti-inflamatório e anticarcinogênica, bem como seu efeito cardioprotetor (PACE-ASCIAK et al., 1996; DAGLIA, 2011).

### **2.2.2 Flavonoides**

Os flavonoides são compostos naturalmente presentes em frutas e vegetais, eles exercem efeitos protetores contra danos produzidos por agentes oxidantes (MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002). São divididos em classes de acordo com sua estrutura molecular. A estrutura química básica dos flavonoides consiste de 15 carbonos distribuídos em dois anéis aromáticos (anel A e B) unidos por carbono heterocíclico do pirano (Figura. 3).

Figura 3 - Estrutura química genérica dos flavonoides



Fonte: Ângelo; Jorge, 2007.

Variações na substituição do pirano resultam em importantes classes de flavonoides como antocianinas, flavonóis, flavanas, isoflavonas, flavanonas e flavonas. (ANGELO; JORGE, 2007; NIJVELDT et al., 2001). Os grupos de flavonoides de maior importância e sua fonte alimentar estão descritos na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1 - Grupo dos flavonoides, componentes individuais e fontes alimentares

<b>Grupos</b>	<b>Componente principal</b>	<b>Fonte alimentar</b>
Flavonas	Apigenina	Casca de maçã
	Chrisina	<i>Berrie</i>
	Kaempfenol	Brócolis
	Luteolina	Peles de fruta
	Miricetina	<i>Cranberrie</i>
	Rutina	Uva
	Sibelina	Alface
	Quercetina	Oliva Alho
Isoflavonas	Daidzeína	Soja
	Genisteína	
	Biochanina A	
Flavanonas	Fesetina	Frutas cítricas
	Hesperetina	Pele de fruta cítrica
	Narigina	
	Naringenina	
	Taxifolina	
Catequinas	Catequina	Vinho tinto
	Epicatequina	Chá
	Epigallocatequina galato	
Antocianinas	Cianidina	<i>Berrie</i>
	Delfinidina	Cereja
	Malvidina	Uva
	Pelargonidina	<i>Raspberrie</i>
	Peonidina	Uva, jabuticaba
	Petunidina	Morango
		Chá Pele de fruta com pigmento escuro

Fonte: Nijveldt et al., 2001.

Devido grande importância do grupo polifenólico da antocianina ela é descrita como item a parte.

### 2.2.3 Ácidos fenólicos

Estes ácidos consistem em dois grupos, o grupo derivado do ácido hidroxibenzoico; que inclui os ácidos gálico, p-hidroxibenzoico, protocatecúico, vanílico e siringico, com estrutura comum C6-C1; e o grupo derivado do ácido hidroxicinâmico, que tem mais comuns os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico e sináptico (ANGELO; JORGE, 2007).

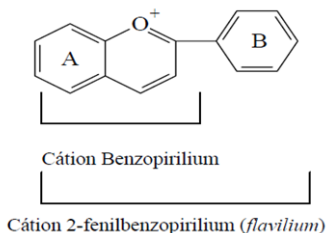
### 2.2.4 Taninos

Classe de polifénois que possui maior massa molecular e apresentam uma rica diversidade estrutural. Os taninos condensáveis, denominados proantocianidinas, são oligômeros e polímeros de catequina e/ou leucocianidina. São denominados proantocianidinas por apresentarem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, como a cianidina e a delphinidina (ANGELO; JORGE, 2007).

### 2.2.5 Antocianinas

As antocianinas são compostos da família dos flavonoides e seu espectro de cor varia do vermelho ao azul e atualmente sabe-se que são responsáveis também pelas colorações violeta, amarela e púrpura de uma grande variedade de espécies do reino vegetal (TERCI; ROSSI, 2002; JACKMAN et al., 1987). Estruturalmente, as antocianinas são derivados glicosilados do cátion 2-fenilbenzopirilium, também denominado de *cátion flavílium* (Figura. 4) (JACKMAN et al., 1987).

Figura 4 - Estrutura básica das antocianinas

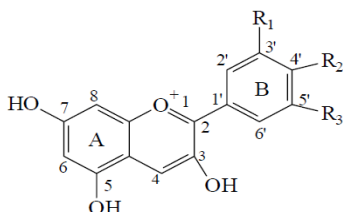


Fonte: Adaptado por Bobbio e Bobbio (1995).

As antocianinas apresentam-se, na maioria das vezes, ligados a açúcares, que auxiliam na estabilidade da molécula (FRANCIS, 1982). São compostos solúveis em água e sensíveis ao calor (SHAHIDI & NACZK, 1995). São encontradas em diversos vegetais como uva, maçã, feijão preto, morango, amora, jabuticaba, cerejas, jambolão, chicória, cenouras púrpuras, dentre outros, estando presente também em alimentos derivados de frutas como sucos, geleias, licores e vinhos (JAIN; SESHADRI, 1975; GOIFFON et al., 1991; LEE; HONG, 1992; GOIFFON et al., 1999; CHANDRA et al., 2001; LAZCANO et al., 2001; MATAIX; CASTRO, 2001; OKUMURA et al., 2002; TERCI; ROSSI, 2002).

Atualmente se conhece 20 antocianinas, mas apenas seis destes compostos são importantes na tecnologia de alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina. A Figura 5 mostra a representação estrutural das antocianinas mais comuns e a nomenclatura das antocianinas de cada estrutura está apresentada na Tabela 2. As demais são relativamente raras e são normalmente encontradas em flores e folhas (FENNEMA, 1993).

Figura 5 - Estrutura geral das antocianinas mais comuns



Fonte: Adaptado por Bobbio e Bobbio (1995).

Tabela 2 - Identificação da antocianina de cada estrutura referente a Figura 5

Antocianinas	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Cianidina	OH	OH	H
Delfinidina	OH	OH	OH
Pelargonidina	H	OH	H
Petunidina	OMe	OH	OH
Malvidina	OMe	OMe	OMe
Peonidina	OMe	OH	H

Fonte: Adaptado por Bobbio e Bobbio (1995).

As antocianinas são alternativas para corantes sintéticos, principalmente em alimentos e cosméticos pela coloração vermelha (TÜRKER; ERDOGDU, 2006).

## **2.2.6 Capacidade Antioxidante**

Frutas e hortaliças apresentam em sua composição compostos com ação antioxidante que variam em função da sua cultivar, estágio de maturação, tipo de solo e clima de cultivo, sendo por esse motivo, necessária a determinação da capacidade antioxidante, como meio de avaliar a proteção contra a oxidação e a deterioração do alimento e, conseqüentemente, dispor de um instrumento para poder recomendar o consumo de alimentos que disponham de uma melhor qualidade e de elevado valor nutricional (ARAYA; CLAVIJO; HERRERA, 2006).

Dentre os métodos que determinam a capacidade dos antioxidantes em sequestrar radicais livres, destacam-se aqueles que envolvem um radical cromóforo como o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e o FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), simulando as espécies reativas ao oxigênio (ARNAO, 2000).

## **2.3 EXTRAÇÃO**

### **2.3.1 Conceitos**

#### **2.3.1.1 Extratos**

Segundo as farmacopeias brasileira, americana dentre outras, o extrato é definido como, preparações obtidas pela concentração, até determinado grau, das soluções resultantes de esgotamento das substâncias medicamentosas por um dissolvente, que pode ser água, álcool, éter, acetona ou outros solventes a depender da finalidade, (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000).

#### **2.3.1.2 Processos extrativos**

Apesar de inúmeros fatores influenciarem no processo extrativo, tais como temperatura, agitação, granulometria e pH, o sucesso da extração é estreitamente dependente do solvente escolhido (SOARES et. al., 1998; FELLOWS, 2006). Neste sentido, pode-se dizer que a seletividade da extração pode atingir um elevado grau, trabalhando-se



com a polaridade relativa dos constituintes que se pretende extrair e dos solventes. A seletividade exigida fundamenta-se em dois principais fatores, as características do solvente e o processo extrativo aplicado (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003).

### 2.3.1.3 Pré-tratamentos

Independente do processo extrativo, a secagem do material é um procedimento de extrema importância (COSTA, 1994; SCHULZ et al., 2002). A secagem pode ser realizada ao ar livre, em estufas empregando ar quente, ou com o emprego de liofilizadores.

Na secagem por ar quente utilizam-se estufas equipadas com termostato para garantir a manutenção de temperatura durante o processo; é conveniente deixar escapar o ar da estufa, a fim de evitar a sua saturação com o vapor d'água que vai sendo desprendido do material a secar. A secagem a frio com liofilizadores é usada para preservar a integridade da amostra sensível ao aquecimento. Independente de como é realizada, a operação de secagem propicia a redução de volume e de massa e facilita a moagem dos materiais (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003).

## 2.3.2 Técnica

### 2.3.2.1 Extração

A granulometria do material influencia diretamente na eficiência da extração. Como o poder de penetração dos solventes depende, entre outros fatores, da consistência dos tecidos que formam o material a extrair, quanto mais rígido for o material menor deve ser sua granulometria (COSTA, 1994; SIMÕES et al., 2003).

O aumento da temperatura provoca um aumento da solubilidade de qualquer substância, entretanto, nem sempre o calor pode ser empregado, já que muitas substâncias são instáveis em altas temperaturas (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003; FENNEMA, 1993; FELLOWS, 2006).

O tempo de extração varia em função da natureza das substâncias a extrair, do solvente empregado e do emprego – ou não – de temperatura e/ou agitação (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003; FELLOWS, 2006).

As técnicas de sólido-líquido percolado, sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistido por ultrassom foram utilizadas nesse trabalho e estão descritas abaixo.

### 2.3.2.2 Sólido-líquido percolado

A percolação, ao contrário da maceração é um processo dinâmico, onde se faz o arrastamento do princípio ativo pela passagem contínua do líquido extrator. Também permite obter soluções extrativas mais concentradas, economia do líquido extrator e tempo relativamente curto. A percolação é indicada em processo extrativos de substâncias farmacologicamente, muito ativas, presentes em pequena quantidade ou pouco solúveis (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003).

Na percolação, a amostra vegetal moída é colocada em um suporte adaptado para a passagem do solvente, neste caso foi usado um filtro através do qual foi passado o líquido extrator. (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003). A percolação tem por principal vantagem a rapidez e simplicidade do processo. A desvantagem deste processo é que, pelo pouco tempo de contato entre solvente e soluto, de acordo com a permeabilidade do solvente e solubilidade da amostra, alguns compostos não são extraídos.

### 2.3.2.3 Sólido-líquido convencional

A extração sólido - líquido convencional é uma operação unitária que envolve a extração de um componente desejado (soluto) de um alimento em sua fase sólida usando-se um líquido (solvente); isso compreende a mistura do alimento com o solvente, que pode ser realizada em um estágio ou em vários.

Durante a extração ocorre a transferência de massa do soluto para o solvente, que acontece em três etapas: o soluto se dissolve no solvente, a solução penetra através da partícula do alimento para sua superfície e por último a solução se torna dispersa no volume total do solvente. Durante a extração, o tempo de contato é muito importante, pois é ele quem determina se a quantidade extraída é suficiente desejada para a operação (FELLOWS, 2006).

As principais desvantagens desse processo são seus altos tempos de residência e com isso há degradação térmica, além disso, o uso de

### 2.3.2.5 Solventes

determinados solventes orgânicos pode resultar em possíveis resíduos muitas vezes proibidos em alimentos (SEBASTIÁN et al., 1998). Diferente da percolação os tempos de contato assim como efeitos da temperatura podem ser controlados de acordo com a sua influência no processo.

### 2.3.2.4 Extração sólido-líquido assistida por ultrassom

Este método utiliza a energia das ondas ultrassônicas (mecânicas) que são transmitidas em frequência superior ao limite audível do limite humano, numa frequência acima de 20kHz. Estas ondas sonoras criam uma única vibração, que causa variação na pressão do meio líquido, gerando cavitação. A ciência do ultrassom se divide em duas áreas: alta e baixa potência (MELECCHI, 2005; LUZ, 1998).

As ondas de alta potência (menores que  $1\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$  a milhares de  $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) as quais causam mudança física e química permanente, pois produzem a cavitação e microfluxos nos líquidos, aquecimento e ruptura nos sólidos e instabilidade na superfície da face do sistema sólido-líquido. As principais utilidades deste tipo de onda ultrassônica está nos banhos de limpeza, soldas, reações químicas e outras coisas; e as ondas ultrassônicas de baixa potência (frequência maior que 20kHz) com baixa amplitude de propagação, onde o que importa é o efeito do meio sobre a onda, estes são usados em muitos campos da ciência, engenharia e medicina, para testes e diagnósticos técnicos (ADAMS, 2002; MELECCHI, 2005; FREITAS, 2007; LUZ, 1998).

A extração por ultrassom apresenta como vantagens a alta reprodutibilidade da técnica, a possibilidade de utilização para uma ampla faixa de tamanho da amostra, a simplicidade do equipamento, a rapidez no processamento da amostra e seu baixo custo inicial; porém sua inabilidade de renovação do solvente durante o processo, faz com que a capacidade de extração seja limitada pelo equilíbrio de fases, e o perigo de perda ou contaminação do extrato durante a manipulação, os quais podem ser citados como desvantagens (ADAMS, 2002; CASTRO; GARCIA-AYUSO, 1998; MELECCHI, 2005; FREITAS, 2007, LUZ, 1998), porém este erro não se aplica ao processo realizado em questão, uma vez que o solvente não é reciclado e tem volume controlado a partir do planejamento.

O mundo está em um processo de conscientização em relação ao meio ambiente. A exploração, o uso descontrolado das fontes naturais e o descarte inadequado nas fontes naturais causou severos prejuízos ambientais. Silva (2005) iniciou estudos baseado no desenvolvimento sustentável, conhecido como química verde, onde visa diminuir os resíduos dos processos, e assim diminuir danos ao meio ambiente.

Um dos principais problemas da indústria química, bem como das pesquisas a nível acadêmico, está relacionado com a utilização de solventes orgânicos (voláteis ou não) em seus processos e dependendo do solvente utilizado, a manufatura, o transporte, o estoque, o manuseio e o descarte representam aspectos que demandam cuidado e capital (KAKABADSE 1984).

Pensando neste sentido foi escolhido a água como solvente, uma vez que seu descarte não causa dano drástico ao meio ambiente, além do mais, o contato é com material vegetal inerte de interferentes tóxicos, uma vez que a água é um solvente não tóxico, não corrosivo, não inflamável, ambientalmente amigável, naturalmente abundante e disponível a baixo custo (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015; PLAZA; TURNER, 2015). A utilização de água como solvente costumava ser descartada dos estudos de reações orgânicas por diversas razões; entre elas, podem ser citadas a insolubilidade dos reagentes, a sua incompatibilidade com os intermediários e a competição da reação desejada com processos de hidrólise dos reagentes.

No entanto, a maioria dos processos bioquímicos ocorre em água, e as diversas reações *in vivo* levaram os químicos a levantar a potencialidade do seu emprego como meio em reações orgânicas (LUBINEAU et al., 1994; KING et al 1992). No caso específico das antocianinas, a polaridade do composto químico, o fato de serem consideravelmente solúveis em água facilita a extração, tornando-a eficiente (JING; GIUSTI, 2007).

Cada vez que conseguimos cumprir alguns quesitos da Química Verde, caminhamos para uma utilização mais consciente dos nossos recursos naturais e para a manutenção da vida no planeta. Não sendo essa a única estratégia para essa melhoria, mas é importante considerar.

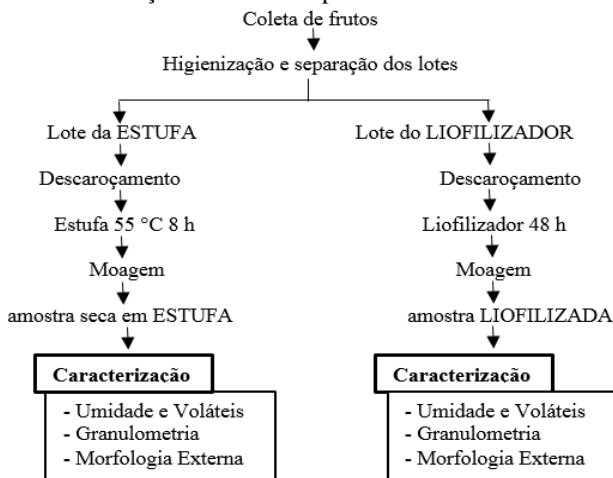
### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATÉRIA-PRIMA

Os frutos do jambolão (*Syzygium cumini Lamarck skeels*) foram coletados no campus universitário em Florianópolis - SC, no mês de maio de 2016. A coleta foi feita manualmente nas primeiras horas da manhã. O material foi identificado e tem registro no Herbário Flor da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sob EXSICATA de registro número FLOR 31.270.

Após a coleta, os frutos foram acondicionados em caixas plásticas e transportados para o Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC) no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos (EQA) da referida universidade. As amostras foram submetidas à separação primária, removendo folhas, restos de galhos e demais sujidades. Após esta etapa, foram lavados em água corrente e separados em dois lotes para pré-tratamentos diferentes, um destinado ao processamento de secagem em estufa com circulação de ar à 55°C por 8h e o outro para secagem em liofilizador por 48h, como descrito no fluxograma abaixo (Figura 6). As condições definidas para os diferentes pré-tratamentos foram escolhidas a partir de trabalhos anteriores.

Figura 6 - Fluxograma das etapas iniciais realizadas. Coleta, higienização, pré-tratamento e caracterização das matérias-primas



Fonte: Autora, 2016.

Os frutos dos lotes foram descaroçados (Figura 7), ambas as amostras foram divididas em polpa e casca onde encontram-se os componentes de interesse para o estudo em questão, e em sementes que foram descartados do processo para evitar contaminação por componentes interferentes como relatado em outros trabalhos. A descrição detalhada desta parte está descrita a seguir.

Figura 7: Processo de descaroçamento do fruto do jambolão, a) fruto inteiro, b) polpa e casca e c) sementes



a)

b)

c)

Fonte: Autora, 2016.

### 3.2 SECAGEM EM ESTUFA

As amostras foram colocadas em bandejas com dimensões 40cm de comprimento e 33cm de largura, sendo distribuídas com espessura de camada aproximada em 1 cm, seguiu-se então para a secagem a 55°C em estufa com circulação de ar (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil), por 8 h ininterruptas (Figura 8). As definições de tempo e temperatura foram definidos a partir de trabalhos da literatura.

Figura 8 - a) estufa, b) amostras em processo de secagem em estufa



a)



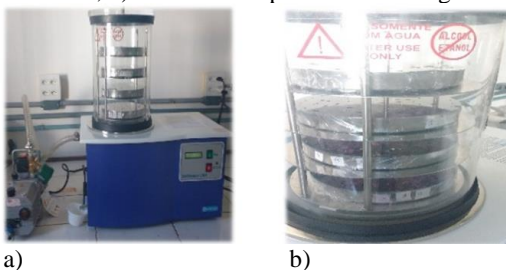
b)

Fonte: Autora, 2016.

### 3.3 SECAGEM EM LIOFILIZADOR

As amostras foram distribuídas nas bandejas do equipamento que tem 18cm de diâmetro, as quais foram distribuídas com espessura de camada de 2,5cm, as bandejas foram relocadas para o equipamento as quais foram secas em liofilizador (L 101, LIOBRAS Ind. Com. E Serv. Ltda, São Carlos/SP, Brasil), por 48h ininterruptas, como mostra a Figura 9. O tempo de secagem é determinado de acordo com a espessura da camada da amostra na bandeja.

Figura 9 - a) liofilizador, b) amostras em processo de secagem em liofilizador

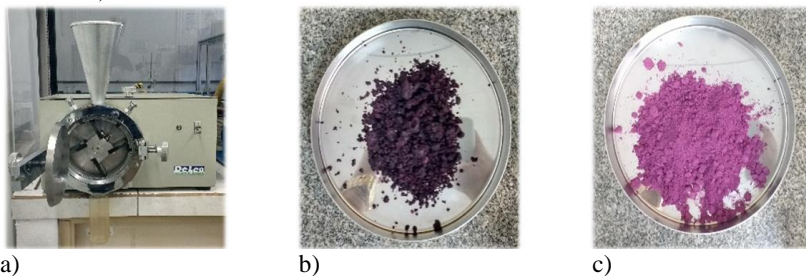


Fonte: Autora, 2016.

### 3.4 MOAGEM E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A moagem dos lotes da estufa e do liofilizador foi realizada utilizando um moinho de facas tipo Willey, Figura 10, e o material produzido foi coletado em saco plástico e armazenado em freezer a uma temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  até as análises seguintes.

Figura 10 - Moinho utilizado e amostras obtidas, a) moinho, b) amostra da estufa moída e c) amostra liofilizada moída



Fonte: Autora, 2016.

### 3.4.1 Teor de umidade e substâncias voláteis

A determinação do teor de umidade e de substâncias voláteis para as amostras de jambolão foi realizada conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985) com adaptações, cujo procedimento fundamenta-se na perda de umidade e substâncias voláteis, quando a amostra é submetida a 70°C em estufa à vácuo.

A massa de cada amostra foi medida em balança analítica (AY220, SHIMADZU, São Paulo/SP, Brasil), sendo 5 g de cada amostra colocados em cápsulas de alumínio taradas, previamente aquecidas em estufa vácuo (Q819V2, Kimis aparelhos científicos Ltda, Diadema/SP, Brasil), a 70°C por 1h, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e medidas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em estufa a vácuo, sob pressão reduzida a 70°C por 6h, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e as massas medidas novamente. As operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas em intervalos de meia hora, até massa constante. Para o cálculo do teor de umidade e voláteis, foi utilizada a Equação 1.

$$\text{Teor de compostos voláteis (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (1)$$

Em que  $m_i$  é a massa inicial da amostra (g) e  $m_f$  é a massa final da amostra (g).

A determinação de umidade e substâncias voláteis de ambas as amostras foi realizada em triplicata e o resultado expresso como média  $\pm$  desvio padrão.

### 3.4.2 Granulometria

A determinação do diâmetro médio das partículas foi efetuado através do cálculo proposto por Gomide et al. (1980). Neste ponto, aproximadamente 50 g de cada uma das diferentes amostras foram utilizados nas peneiras da série Tyler de mesh 20, 25, 35, 45, 60, 70, 80 e fundo. Assim, o conjunto foi agitado por 30 min em agitador de peneiras (Bertel Metalurgic Ind. Ltda., Caieiras/SP, Brasil). As frações retidas em cada peneira foram medidas para realização do cálculo do diâmetro médio da partícula, conforme descrito abaixo pela Equação 2 (a) e (b):



$$\overline{d}_S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta \ell_i}{d_i}}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta \ell_i}{d_i^3}}} \quad (2a)$$

$$\Delta \ell_i = \frac{m_i}{M} \quad (2b)$$

Onde  $\overline{d}_S$  é o diâmetro médio superficial das partículas (mm),  $m_i$  é a massa de amostra retida na peneira  $i$  (g),  $M$  é a massa total de amostra (g),  $d_i$  é o diâmetro da peneira  $i$  (mm) e  $n$  é o número total de frações.

### 3.4.3 Morfologia externa

A microestrutura das partículas das amostras secas em estufa e em liofilizador foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As partículas foram aderidas adequadamente nos “stubs” com fita carbono de dupla face. Após condicionamento em alto vácuo, as amostras foram fixadas com ouro (camada de 30 nm de espessura) e submetidas à análise no Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo JEOL/JSM – 6390LV, Jeol), com visualização realizada em aumentos de 50 a 350 vezes, a uma tensão de 10 kV. As análises foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica – LCME da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

### 3.5 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL

Os ensaios foram determinados a partir de um delineamento composto central com três fatores e três níveis para cada fator, constituindo um total de 11 experimentos casualizados, sendo oito fatoriais (combinação dos níveis -1 e +1) e três repetições no ponto central (as três variáveis no nível zero). Os níveis e os fatores estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Níveis das variáveis independentes para Planejamento 2<sup>3</sup> de secagem do jambolão

Níveis	-1	0 (ponto central)	+1
Massa (g)	3	6	9
Temperatura (°C)	30	40	50
Ciclo (adm)	0	2	4
Tempo (h)	1	3	5

(adm) adimensional.

As variáveis independentes foram: massa (g), temperatura (°C) e ciclo (lavagem com solvente recirculado) para a extração sólido-líquido

percolado, e massa (g), temperatura (°C) e tempo (h) para as extrações por sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistida por ultrassom. As massas e tempo de extração das amostras do jambolão foram definidos de acordo com estudos descritos na literatura, a temperatura de extração foi definida através da observação da faixa de sensibilidade dos compostos bioativos presentes em vegetais.

As respostas avaliadas foram: rendimento da extração (R), compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT), antocianinas totais (AT), atividade antioxidante (AA) por DPPH, e FRAP. A matriz completa do planejamento está representada na Tabela 4.

Tabela 4 – Delineamento composto central para as variáveis massa, temperatura, ciclo e tempo

ENSAIO	Níveis Codificados				Níveis decodificados			
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	m (g)	T (°C)	C (V)	t (hora)
1	-1	-1	-1	-1	3	30	0	1
2	1	-1	-1	-1	9	30	0	1
3	-1	1	-1	-1	3	50	0	1
4	1	1	-1	-1	9	50	0	1
5	-1	-1	1	1	3	30	4	5
6	1	-1	1	1	9	30	4	5
7	-1	1	1	1	3	50	4	5
8	1	1	1	1	9	50	4	5
9	0	0	0	0	6	40	2	3
10	0	0	0	0	6	40	2	3
11	0	0	0	0	6	40	2	3

m (massa); T (temperatura); C (ciclo); t (tempo); X<sub>1</sub>= variável massa (g); X<sub>2</sub>= variável temperatura (°C); X<sub>3</sub>= variável ciclo (adimensional), para extração sólido-líquido percolado. Para as extrações sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistida por ultrassom as variáveis são X<sub>1</sub> = massa (g); X<sub>2</sub> = temperatura (°C), X<sub>3</sub> = ciclos de lavagem e X<sub>4</sub> = tempo (h).

As condições escolhidas para delinear os experimentos foram baseadas em estudos anteriores. Para se fazer a codificação/decodificação dos níveis das variáveis empregou-se a Equação 3, conforme descrito em Teófilo e Ferreira (2006).

$$x_i = \frac{z_i - \bar{z}}{\frac{\Delta z}{2}} \quad (3)$$

Em que:  $x_i$  é o valor codificado do planejamento composto central,  $z_i$  é o valor experimental do nível zero (0), e  $\Delta z$  é a diferença entre os níveis mais (+) e menos (-).

Os coeficientes do modelo foram avaliados estatisticamente quanto a sua significância e interpretados de acordo com sua importância no sistema.

### 3.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

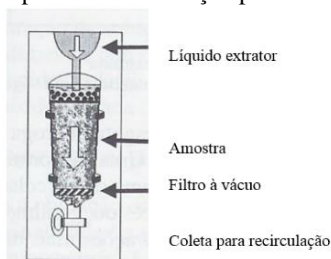
Os métodos selecionados para este estudo foram: sólido-líquido percolado, sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistida por ultrassom. Ao final das extrações, os sistemas foram filtrados à vácuo (825T, FISATOM, Brasil) com papel filtro para separação da amostra sólida e da solução com extrato.

Após, passaram por um processo de eliminação de solvente, em liofilizador (L 101, LIOBRAS Ind. Com. E Serv. Ltda, São Carlos/SP, Brasil) por 48 h. Em seguida, os extratos acondicionados em frascos âmbar foram armazenados em freezer doméstico, a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.6.1 Extração sólido-líquido percolado (SLP)

Para o método de extração por percolação, o solvente (água) entrou em contato com a amostra, por lavagem com e sem recirculação do solvente, através do processo de filtração à vácuo (825T, FISATOM, Brasil) com papel filtro, de acordo com o determinado pelo delineamento (Tabela 4 acima citada), tomando o cuidado com a temperatura do líquido extrator e a massa da amostra, para que estivessem de acordo com o planejado. O volume das extrações foi 25 mL de acordo com estudos da literatura. Tendo como referência metodologia descrita por Migliato (2005). O diagrama esquemático da extração por percolação é mostrado na Figura 11 a seguir:

Figura 11 – Diagrama de processo de extração por sólido-líquido percolado



Fonte: Simões et al., (2003) adaptado pelo autor.

### 3.6.2 Extração sólido-líquido convencional (SLC)

As extrações foram realizadas conforme a metodologia descrita por Santos (2015). Para esse processo, a amostra de 3 a 9g a depender de cada ensaio foi mantida em contato com o solvente (água), durante um período de tempo de 1 a 5 horas de acordo com o delineado na tabela 4. As extrações foram realizadas com o controle de temperatura pelo uso de um banho-maria (ALB 250C, Piracicaba - SP, Brasil), sendo as temperaturas 30, 40 e 50°C. A Figura 12 ilustra uma foto do processo de extração.

Figura 12 - Processo de extração sólido-líquido convencional utilizado



Fonte: Autora, 2016.

### 3.6.3 Extração sólido-líquido assistida por ultrassom (SLU)

O método de extração sólido-líquido assistida por ultrassom foi realizado com os parâmetros descritos na Tabela 4, no qual as massas entre 3 e 9g de amostra foram adicionados a 25mL de solvente, acondicionados em frascos âmbar de 60mL. Os frascos foram submetidos a banho indireto em ultrassom utilizando uma lavadora ultrassônica (Unique, USC-1880 A, Brasil, potência: 132w, frequência: 37kHz), por tempos entre 1 e 5h. A Figura 13 mostra o equipamento utilizado nesta etapa. Após o tempo de extração estabelecido, o sistema foi filtrado e realizou-se a eliminação do solvente, conforme descrito anteriormente.

Figura 13 – Equipamento utilizado no processo de extração sólido-líquido assistida por ultrassom



Fonte: Autora, 2016.

### 3.7 ANÁLISES DOS EXTRATOS

#### 3.7.1 Rendimento das extrações (R)

O rendimento do extrato de jambolão representa a massa de extraíveis presentes na matriz sólida referente a influência de uma dada massa, temperatura e ciclo ou tempo de extração.

Os frascos contendo os extratos foram pesados em balança analítica, (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil) com precisão ao décimo de miligrama, e armazenados em congelador a -18 °C até a realização das análises para avaliação da qualidade dos extratos.

O valor de R foi calculado através da razão entre a massa de extrato ( $m_{\text{Extrato}}$ ) obtida e a massa de cada matéria-prima vegetal ( $m$ ) utilizada para extração, conforme a Equação 4.

$$R(\%) = \frac{m_{\text{Extrato}}}{m} * 100 \quad (4)$$

#### 3.7.2 Determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT)

A determinação do teor de compostos fenólicos totais presente nos extratos de jambolão foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (ROSSI; SINGLETON, 1965; PESCHEL et al., 2006). Este método associa a coloração azul devido à oxidação dos compostos fenólicos em meio básico.

Inicialmente, foi necessário construir uma curva analítica de ácido gálico, a fim de representar a absorbância da amostra frente a curva. Preparou-se uma solução estoque de  $0,002\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de ácido gálico em água destilada, e a partir desta solução estoque, foram diluídas alíquotas em balões volumétricos de 10mL para a obtenção de soluções de concentrações finais de 0, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400 e  $500\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . A reação de oxidação foi realizada em tubos de ensaio, sendo transferidos para estes  $6000\mu\text{L}$  de água destilada,  $100\mu\text{L}$  de cada uma das diluições,  $500\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu. Após 30 segundos da adição do reativo foi adicionado  $1500\mu\text{L}$  de solução aquosa de carbonato de sódio a 20% (m/v). Os tubos foram completados com água destilada até a marca de 10mL, agitados e deixados em repouso ao abrigo da luz e a temperatura ambiente por 2 h para que a reação ocorresse. A absorbância de cada uma das soluções foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP, Brasil) e o branco foi realizado com água destilada. A curva analítica de ácido gálico foi representada através do gráfico de

absorbância versus concentração de ácido gálico ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e está apresentada no Apêndice A.

Os extratos avaliados foram diluídos em água destilada, mesmo solvente da extração, e seguiu-se o mesmo procedimento de reação de oxidação descrito para a curva analítica de ácido gálico. Os valores de absorbância encontrados para cada tipo de extrato foram correlacionados com a curva analítica, e o teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi determinado através da Equação 5. Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados expressos em mg de EAG/100g de extrato, como média  $\pm$  desvio padrão.

$$CFT \left( \text{mg} \frac{EAG}{\text{g de extrato}} \right) = \frac{(EAG*1000)}{D_{\text{Extrato}}} \quad (5)$$

Sendo: EAG o equivalente em ácido gálico, obtido através da curva analítica (mg EAG/L) e D a diluição da amostra (mg de extrato/L).

### 3.7.3 Flavonóides Totais (FT)

Os flavonóides presentes nas amostras foram determinados segundo método desenvolvido por Francis (1982). A uma amostra de aproximadamente 0,5 g foi adicionado de 10mL de solução extratora etanol 95% HCl 1,5N na proporção de 85:15. A mistura foi homogeneizada e macerada por 2 min. Em seguida foi transferida para um tubo envolto em papel alumínio, ficando em repouso durante 24h. O material resultante foi filtrado e este acrescido de uma solução etanol/HCl até atingir o volume de 10mL. A absorbância da solução final produzida foi obtida em espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP, Brasil) a 374nm e os resultados expressos em mg/100g da amostra, calculados de acordo com a Equação 6 (a) e (b) descrita abaixo.

$$FT \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{Fd*Abs}{76,6} \quad (6a)$$

$$Fd = \frac{100}{\frac{m}{v}} \quad (6b)$$

Onde: Fd = fator de diluição, Abs. = absorbância a 374nm, m = massa (g) e v = volume (mL).

### 3.7.4 Antocianinas Totais (AT)

O teor de Antocianinas foi verificado de acordo com metodologia de Francis (1982). A uma amostra de aproximadamente 0,5g foi adicionado cerca de 10 mL de solução extratora etanol 95% HCl 1,5 N na proporção de 85:15. A seguir a mistura foi homogeneizada e macerada

por 2 min e transferida para um tubo envolto em papel alumínio, ficando em repouso por 24h. O material resultante foi filtrado e acrescido de uma solução etanol/ HCl até atingir o volume de 10mL. A absorbância desta solução foi lida em um espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP, Brasil) a 535nm e os resultados calculados pela Equação 7, expressos em mg/100 g da amostra.

$$AT \left( \frac{mg}{100g} \right) = \frac{Fd * Abs}{98,2} \quad (7a)$$

$$Fd = \frac{100}{\frac{m}{v}} \quad (7b)$$

Onde: Fd = fator de diluição, Abs. = absorbância a 374 nm, m = massa (g) e v = volume (mL).

### 3.7.5 Avaliação da Atividade Antioxidante (AA)

O comportamento da atividade antioxidante dos extratos, determinado pelas metodologias descritas a seguir, foi utilizado para avaliar a qualidade dos extratos obtidos pelas extrações a baixa pressão, bem como comparar os resultados entre eles.

#### 3.7.5.1 Método 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A técnica de determinação de atividade antioxidante pelo método DPPH constitui na reação do composto em análise em uma solução etanólica de DPPH na concentração de 0,3mM e com concentrações crescentes (5 a 900mg·mL<sup>-1</sup>) dos extratos analisados (amostra seca em estufa por SLP, SLC, SLU e amostra liofilizada também por SLP, SLC, SLU), por 30 min, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Decorrido o tempo de reação, fez-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP, Brasil) a um comprimento de onda de 517 nm.

Quanto maior a atividade antioxidante da amostra testada, mais estável o radical DPPH se torna, provocando a descoloração da solução (DPPH e extrato) e diminuindo sua absorbância (MENSOR et al, 2001). Assim, o percentual de inibição das amostras testadas sobre o radical pode ser calculado convertendo-se a absorbância em percentual de atividade antioxidante (AA %), segundo a Equação 8:

$$AA (\%) = 100 - \left[ \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) * 100}{Abs_{controle}} \right] \quad (8)$$

A concentração das amostras necessárias para captar 50% do radical livre DPPH (EC50 - *Effective concentration*) é calculada por

análise de regressão exponencial e linear (MENSOR et al., 2001). Os resultados encontrados de concentração efetiva (EC50) foram expressos como média.

### 3.7.5.2 Método Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP)

A determinação da atividade antioxidante pelo método FRAP foi realizada no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC) por meio do método descrito por Benzie e Strain (1993), modificado por Arnous et al. (2002).

Inicialmente preparou-se a solução de Trolox 2mM para construção da curva padrão. Diluições de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 e 500µM foram criadas. Dessas diluições, passou-se 200µL para tubos de ensaio mais 200µL da solução de cloreto férrico anidro 3mM em duplicata. Os tubos foram agitados na mão e colocados em banho-maria a 37°C por 30min. Posteriormente, adicionou-se 3,6mL da solução de TPTZ (2,4,6-tripiryridyl-s-triazine) (Sigma Aldrich), os tubos foram homogeneizados em vortex e colocados em banho de gelo por 10min para estabilização da reação. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (FEMTO, 800-XI, São Paulo, SP, Brasil) no comprimento de onda de 620nm. Para construção da curva, plotou-se a concentração de Trolox µM no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y, calculando a equação da reta. A curva é apresentada no Apêndice A.

Para o preparo da “solução-mãe”, dissolveu-se 0,01g de extrato em 5mL de álcool etílico P.A. Utilizou-se de ultrassom durante 5 min sem acréscimo na temperatura, para melhor solubilização dos extratos. O meio reacional foi preparado semelhantemente a curva padrão de Trolox, sendo que, 200µL de solução mãe foram pipetados em triplicata em tubos de ensaio, adicionando-se de 200µL de cloreto férrico anidro 3mM, para o branco, ao invés da solução mãe, adicionou-se 200µL de álcool etílico P.A., os tubos foram agitados manualmente e colocados em banho-maria a 37°C durante 30 min. Após isso, adicionou-se 3,6mL de TPTZ aos tubos e agitou-se em vortex, sendo colocados em banho de gelo por 10min. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP, Brasil) a 620nm. Para os cálculos utilizaram-se as Equações 9 (a) e (b).

$$C = \frac{(Abs - Absb) - A}{B} \quad (9a)$$

Onde C (µmol·L<sup>-1</sup>), A e B são os coeficientes da curva padrão, Abs a absorbância da leitura da amostra e Absb a absorbância do branco.



Cálculo da atividade antioxidante:

$$C = \frac{C*D*100}{m} \quad (9b)$$

Onde C ( $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra), C ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), D é a diluição utilizada e m a massa de amostra.

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de rendimento global, teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, antocianinas totais e atividades antioxidante foram submetidos a análise de variância (ANOVA), pelo teste F ( $p < 0,05$ ), utilizando o *software* Statistica para Windows 7,0 (Statsoft Inc, EUA). Quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

### 3.9 DETERMINAÇÃO DO PERFIL QUÍMICO DOS EXTRATOS

#### 3.9.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM)

O perfil de compostos voláteis dos extratos de jambolão secos em estufa e liofilizado foram realizados na Central de Análises do curso de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Para cada experimento realizado, 1000 $\mu\text{L}$  da fase vapor foram recolhidos com seringa HD-Type Syringe Plunger (HAMILTON, USA) e injetados no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM). As condições utilizadas foram selecionadas avaliando-se a quantidade e a área relativa dos picos no cromatograma referentes aos compostos extraídos. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas e agitação de 250rpm.

Os compostos voláteis foram separados e identificados utilizando-se um cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A) acoplado a um espectrômetro de massas (MS 5975C), com coluna capilar HP-5MS (Agilent Technologies), fase estacionária composta por 5% fenil e 95% dimetilsiloxano (30m x 250 $\mu\text{m}$  d.i. x 0,25 $\mu\text{m}$  de espessura do filme) e hélio como gás de arraste a 1mL $\cdot\text{min}^{-1}$ .

As condições cromatográficas foram as seguintes: temperatura do injetor 250°C; a coluna inicialmente a 60°C, posteriormente foi aquecida a uma taxa de 3°C min até 260°C, permanecendo nessa temperatura por 5min. A temperatura de transferência da interface foi de

250°C e a injeção do tipo *splitless*. O volume de amostra introduzido foi de 1000µL.

### 3.9.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas no Laboratório de Bioquímica de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, utilizando um cromatógrafo Shimadzu (Quioto, Japão) equipado com bomba quaternária, degaseificador, forno para coluna e detector de arranjo de díodos (DAD). A separação analítica foi realizada em coluna de fase reversa C18 Shim-pack CLC-ODS (250 x 4,6mm, 5µm), equipada com uma coluna de guarda G-ODS (10 x 4mm, 5 µm) (Shimadzu, Kyoto, Japão). As amostras de extrato de jambolão foram diluídas em água acidificada 1% HCl, filtradas através de 0,45µm de filtro de membrana de PTFE (Millipore, Massachusetts, EUA) e 20µL foram injetados diretamente no sistema cromatográfico. A quantificação de antocianinas (malvidina 3-O-glicosídeo, cianidina 3-O-glicosídeo, delphinidina 3-O-glicosídeo, peonidina 3-O-glicosídeo, Malvidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3,5-diglicosídeo) foi realizada de acordo com método descrito por Revilla e Ryan (2000) usando um sistema de solvente binário constituído por água ultra pura: ácido fórmico (90:10 v/v) (A) e metanol: água ultra pura (50:50 v/v) com ácido fórmico a 10% (B). A separação foi realizada através de um programa de eluição gradiente, conforme a seguir: 20-40% B durante 40 min, 40-100% B durante 10 min, 100% B Durante 5 min, retornando à condição inicial em 5 min. O fluxo foi de 1,0mL·min<sup>-1</sup> e a detecção dos compostos foi realizada em 520nm.

Os compostos fenólicos (+) catequina, (-) epicatequina, tirosol, ácido caféico, ácido caftárico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, miricetina, quercetina, kaempferol e trans-resveratrol foram determinados de acordo com Cadahia et al. (2009). A fase binária móvel consistiu em água ultra pura:ácido acético (98:2 v/v) (A) e água ultra pura:acetonitrila (60:40 v/v) com ácido acético a 2% (B), a um fluxo de 1,0 mL·min<sup>-1</sup>. A elução dos compostos foi realizada utilizando o gradiente linear: 20-40% B durante 40 min, 40- 100% B durante 10 min e 100% B mantido durante 5 min. A detecção foi realizada em 280nm para flavanóis e tirosol, 320 nm para os ácidos cinâmicos e em 360 e 306nm para flavonóis e trans-resveratrol, respectivamente. Todas as análises cromatográficas foram realizadas em triplicata.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERÍSTICAS DAS MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS

#### 4.1.1 Teor de umidade e substâncias voláteis

Os valores de umidade e substâncias voláteis determinados em triplicata para jambolão *in natura* e após as secagens estão apresentados na Tabela 5 como média  $\pm$  desvio padrão.

Tabela 5 – Teor de umidade e substâncias voláteis do jambolão *in natura* e das amostras seca em estufa e liofilizada

Matéria-prima	Teor de umidade e voláteis (%)
<i>In Natura</i>	79 $\pm$ 0,6
Estufa 55 °C – 8 h	28 $\pm$ 0,70
Liofilizado 48 h	3,7 $\pm$ 0,5

O teor de umidade de um alimento está relacionado com sua estabilidade, qualidade e composição, por isso essa secagem como pré-tratamento, teve por finalidade a conservação das substâncias de interesse, presentes no vegetal, uma vez que a retirada de água impede possíveis reações de hidrólise e o crescimento microbiano (SIMÕES et al., 2003). Além disso, o processo de secagem facilita o manuseio da amostra, evitando a formação de aglomerados.

Por meio de pesquisas em estudos semelhantes, pode-se dizer que um maior tempo de secagem, ou a aplicação de temperatura mais elevada à utilizada no pré-tratamento da estufa levavam à queima da matéria-prima, fato observado pela coloração escura que os frutos adquiriam. Assim, o valor de umidade obtido para o jambolão, em ambas os processos de eliminação da água do fruto (estufa 28 %  $\pm$  0,7, liofilizador 3,7 %  $\pm$  0,5) foram adequados aos processos de extração estudados e suficiente para evitar a formação de aglomerados de amostra durante o armazenamento.

O resultado encontrado para o fruto *in natura* (79 %  $\pm$  0,6), é semelhante ao encontrado por Araújo (2014) (79,50 %  $\pm$  0,42) e próximo aos valores encontrados por Barcia (2009) que ao estudar composição centesimal e fitoquímica de jambolão proveniente de três diferentes cidades encontrou valores entre 83,68%  $\pm$  0,59 e 84,68%  $\pm$  2,76. Segundo Barcia (2009), a diferença de clima e solo causam pequenas modificações na composição do fruto, essas diferenças são mais expressivas para a quantidade de açúcares redutores. A quantidade de açúcares e as ligações

com a estrutura das antocianidinas determina o tipo e a quantidade de antocianinas disponíveis em frutos e conseqüentemente nos extratos.

O resultado do fruto liofilizado ( $3,7\% \pm 0,5$ ) foi semelhante ao encontrado nos trabalhos de Araújo (2014) com  $3,5\% \pm 0,07$  e Moreira et al. (2013) de 3,14%. A secagem a frio, usando liofilizador, frequentemente é usada para preservar a integridade da amostra sensível ao aquecimento, além da sua moagem ser facilitada.

#### 4.1.2 Caracterização da matéria-prima moída

A moagem possibilitou reduzir mecanicamente o material vegetal, para a próxima etapa, a extração. Pequenas dimensões de partículas aumentam a área de contato do material sólido com o líquido extrator, desta forma a operação de extração torna-se mais eficiente (DÄR, 1981; SIMÕES et al., 2003).

##### 4.1.2.1 Granulometria

A avaliação granulométrica do material moído é um parâmetro imprescindível a ser estabelecido, pois representa uma influência direta sobre a eficiência no processo extrativo. Os resultados da avaliação da granulometria estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Granulometria característica das amostras do jambolão nos diferentes pré-tratamentos

<b>Pré-tratamento</b>	<b>Diâmetro médio de partícula (mm)</b>
Estufa 55°C – 8 h	Acima de 0,85*
Liofilizador 48 h	$0,23 \pm 0,002$

\* O diâmetro das partículas da amostra seca em estufa é de tamanho maior ou igual ao diâmetro máximo da peneira utilizada nesta análise.

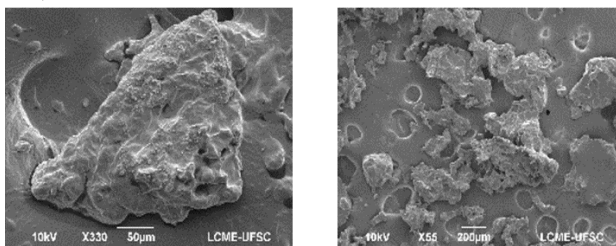
##### 4.1.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

Na Figura 14 estão apresentadas as microscopias eletrônicas de varredura da amostra de jambolão seco em estufa (Figura 14a) e amostra liofilizada (Figura 14b), as imagens tem ampliação de acordo com o tamanho da partícula.

A comparação das imagens deixa clara a diferença de forma e tamanho entre as amostras, 230  $\mu\text{m}$  para amostra liofilizada (valor este que está de acordo com a granulometria, uma vez que a partícula deste processo ficou mais uniforme), sendo considerada a importância desta

análise para identificar apenas a morfologia da partícula, uma vez que este parâmetro pode influenciar na eficiência da extração.

Figura 14 – Microscopia eletrônica de varredura das amostras de jambolão a) seco em estufa e b) liofilizado



a)

b)

Fonte: Autora, 2016.

A partícula da amostra liofilizada tem formato levemente arredondado e partícula com a porosidade maior que as partículas da amostra seca em estufa. Isto acontece porque durante o processo de liofilização, com a retirada da água são formados poros microscópicos por causa da sublimação dos cristais de gelo (EZHILARASI et al., 2013; ARAÚJO, 2014). A partícula da amostra seca em estufa apresenta formato disforme e é consideravelmente maior que a partícula da amostra liofilizada (valor apresentado pelo resultado de granulometria).

#### 4.1.2.3 Compostos bioativos e atividade antioxidante

A Tabela 7 apresenta os resultados encontrados em cada amostra, com resultados apresentados em média e desvio padrão.

O rendimento apresentado em cada processo não apresentou valores estatisticamente diferentes. A quantificação de compostos fenólicos totais é uma estimativa do conteúdo de todos os compostos pertencentes às subclasses de fenólicos presentes em uma amostra. O resultado encontrado para a amostra liofilizada nesta pesquisa ( $998 \pm 93$  EAG/100g) mostra-se acima da faixa dos valores encontrados por Santos (2015) em jambolão liofilizado proveniente do município de Cameté, região do baixo Tocantins no Estado do Pará, ( $599 \pm 1,74$  EAG/100g); e também superior ao resultado encontrado por Araújo (2014) em jambolão liofilizado ( $515 \pm 35$  EAG/100g) e para jambolão seco em leite de jorro ( $418 \pm 14$  EAG/100g). Como já mencionado, muitos fatores interferem nos valores de compostos encontrados em frutas nas diferentes regiões,

como: condições de cultivo, tempo de plantio, exposição à luz, método de colheita, maturação, bem como o método de secagem/ conservação do fruto.

Tabela 7 – Teores de compostos bioativos e atividade antioxidante encontrados nas amostras seca em estufa e amostra liofilizada

RESPOSTA	AMOSTRA ESTUFA <sup>(1)</sup>	AMOSTRA LIOFILIZADA <sup>(1)</sup>
R (%) <sup>2</sup>	21 ± 4 <sup>a</sup>	16 ± 2 <sup>a</sup>
CFT (EAG/100g) <sup>3</sup>	655 ± 175 <sup>b</sup>	998 ± 93 <sup>a</sup>
FT (mg/100g) <sup>4</sup>	248 ± 10 <sup>b</sup>	409 ± 8 <sup>a</sup>
AT (mg/100g) <sup>5</sup>	860 ± 9 <sup>b</sup>	1564 ± 9 <sup>a</sup>
AA DPPH (EC50) <sup>6</sup>	552 ± 34 <sup>a</sup>	204 ± 7 <sup>b</sup>
AA FRAP (μmol/100g) <sup>7</sup>	3828 ± 387 <sup>b</sup>	10266 ± 437 <sup>a</sup>

(1) Letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa ( $p < 0,05$ ). (2) R (Rendimento); (3) CFT (Compostos Fenólicos Totais); (4) FT (Flavonoides Totais); (5) AT (Antocianinas Totais); AA (Atividade Antioxidante), (6) DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) e (7) FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*).

Brito (2007) em estudo de identificação de antocianinas em diversas frutas tropicais, encontrou valor de 771 mg/100g (base seca) no fruto jambolão, comparando esse valor na fruta com o valor encontrado nas amostras seca em estufa e liofilizada, pode-se ver que o pré-tratamento em estufa na temperatura e tempo aplicados, não deteriorou a quantidade das antocianinas presentes no fruto. Os valores de antocianinas encontradas na amostra liofilizada (1564 ± 9 mg/100g) mostraram-se significativamente superior aos valores encontrados por Santos (2015) (212 ± 2 mg/100g) e Araújo (2014) (673 ± 29 mg/100g). Silva (2011) encontrou valores médios de (56,67 mg/100g) para antocianinas totais em amostras de jambolão por *spray drier*, valores menores que o encontrado (860 ± 9 mg/100 g) no presente estudo, quando o jambolão foi seco em estufa com circulação de ar. Estudos indicam que, mesmo sob iguais condições de cultivo, crescimento e fertilização pode observar variações de identidade e quantidade das antocianinas (FAVARO, 2008; SANTOS, 2015). A quantidade e a identidade das antocianinas nos vegetais está relacionada a fatores genéticos e ambientais. Por esse motivo, a comparação de teores destes compostos entre diferentes culturas de um mesmo vegetal, como frutas, ou dentre culturas e vegetais diferentes pode gerar resultados bastante distintos (FAVARO, 2008).

Diante dos resultados da atividade antioxidante para ambas as matérias-primas é possível observar que o pré-tratamento do fruto por liofilização mantém as características originais do produto *in natura*, destacando-se, os teores elevados de compostos bioativos (antocianinas e polifenóis totais) e com isso eleva a capacidade antioxidante. Resultados semelhantes foram encontrados por Faria-Machado (2010) em estudos de identificação e atividade antioxidante de frutas e Bezerra (2015) com estudos de caracterização e efeitos biológicos de polpa de jambolão fresca e desidratada.

Considerando a diferença significativa das características de cada uma das amostras, bem como a importância deste fato para a conclusão nos resultados deste estudo, os extratos das amostras serão comparados separadamente, tratando-os apenas em função do método de extração.

## 4.2 ANÁLISE DOS EXTRATOS

### 4.2.1 Rendimento das extrações

Segundo Silva (2004), o rendimento global de extração é definido como a quantidade total de compostos presentes na matriz sólida passíveis de serem extraídas pelo solvente em função das condições de extração estabelecidas.

Os rendimentos dos extratos de jambolão (amostra seca em estufa e amostra liofilizada), seguindo as condições apresentados na Tabela 4, estão apresentados na Tabela 8.

Os resultados de rendimento dos extratos resultantes da percolação variaram de 7,44 (ensaio 1) para 44,10 % (ensaio 5) na amostra seca em estufa com o aumento do ciclo, fato esse justificado pelo aumento do contato entre soluto e solvente, o que resulta em diminuição das limitações da transferência de massa (MIGLIATO, 2005). Este fato também é apresentado em outros estudos, que afirmam que a lavagem exaustiva aumenta a quantidade de compostos extraídos, assim aumentando o rendimento da extração. O rendimento dos extratos por percolação da amostra liofilizada tem rendimento máximo mesmo no menor ciclo, isso por causa das características da partícula, o menor tamanho e a porosidade, resultante da liofilização, resultam em maior transferência dos compostos presentes no soluto que são compatíveis com o solvente (MIGLIATO, 2005).

Tabela 8 - Rendimentos das extrações (%) dos três diferentes métodos de extração das amostras seca em estufa e liofilizada

ENSAIO	SLP <sup>a</sup>		SLC <sup>a</sup>		SLU <sup>a</sup>	
	I <sup>b</sup>	II <sup>b</sup>	I <sup>b</sup>	II <sup>b</sup>	I <sup>b</sup>	II <sup>b</sup>
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	7,44	45,82	14,26	58,19	14,25	43,68
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	7,48	10,71	22,13	26,73	28,52	18,76
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	27,04	32,76	31,36	48,27	29,26	52,95
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	11,62	7,28	30,72	36,22	31,09	23,28
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	44,10	40,84	10,92	54,15	24,94	52,28
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	25,80	17,40	24,45	35,02	30,58	41,07
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	25,63	29,73	20,96	70,53	45,61	48,25
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	23,00	24,91	27,94	22,24	33,05	21,37
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	21,45	35,41	40,61	34,37	39,00	41,71
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	17,24	31,37	38,96	36,61	39,19	31,40
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	19,71	33,17	41,03	41,24	39,31	41,54

(a) Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom; (b) Métodos de secagem: I = amostra seca em estufa, II = amostra liofilizada.

A extração sólido-líquido representa uma parte importante dos processos industriais, a transferência do soluto da matéria biológica para um líquido adjacente é uma operação tradicional na agroindústria e em indústrias farmacêuticas (POIROT et al., 2007). Na extração por sólido-líquido convencional, para a amostra seca em estufa o rendimento foi de 10,92 % (ensaio 5) e a diminuição do tempo para a mesma massa proporcionou um rendimento correspondente cerca de 4 vezes o valor obtido (41,03 %), isso porque no tempo médio do planejamento o solvente já estava totalmente saturado com os extraíveis do soluto. Para a amostra liofilizada, o extrato apresentou um rendimento máximo no ensaio 7, também na mínima massa, 70,53%. Um fator importante no rendimento da extração é o tamanho das partícula da matriz vegetal. De modo geral a diminuição do tamanho das partículas resulta em um aumento do rendimento de extração, pois facilita o acesso do solvente de extração até o soluto, reduzindo as limitações de transferência de massa (MIGLIATO, 2005).

O maior rendimento das extrações ultrassônicas foi utilizando o nível mínimo de massa, ensaio 7 para a amostra seca em estufa (45,61%) e ensaio 3 para amostra liofilizada (52,95%). Pode-se observar a influência do tamanho da partícula no rendimento da extração, para o ensaio 3 com o menor tempo. Para a amostra liofilizada resultou em um rendimento de extraíveis maior que o rendimento apresentado pelo ensaio



7 (mesmas condições de massa e temperatura, sendo o tempo aumentado) para a amostra seca em estufa.

A Tabela 9 a seguir, mostra a análise de variância (ANOVA) dos valores médios de rendimento de extrações. Pode-se observar, pela Tabela 9, que o ajuste foi não significativo ( $p > 0,05$ ) para os extratos da amostra seca em estufa pelos métodos sólido-líquido e assistido por ultrassom, para os resultados do Box e Wetz (1973) e Neto et al. (2010), rendimento de extração.

De acordo com Box e Wetz (1973) e Neto et al. (2010), para que uma regressão não seja apenas estatisticamente significativa, mas também útil para as médias preditivas, o valor de  $F_{\text{calculado}}$  deve ser pelo menos 4 vezes maior que  $F_{\text{tabelado}}$ , por isso, embora o  $R^2$  dos rendimentos das extrações por percolação da amostra seca em estufa e por ambos os métodos de extração para a amostra liofilizada, o seu  $F_{\text{calculado}}$  não foi 4 vezes maior que o  $F_{\text{tabelado}}$ . Portanto existe uma influência dos fatores de entrada no rendimento mas, não é estatisticamente significativa.

Tabela 9 - Análise de variância para o rendimento das extrações das amostras (seca em estufa e liofilizada) por sólido-líquido percolado, convencional e assistido por ultrassom

EXTRATO I						EXTRATO II					
PERCOLAÇÃO						PERCOLAÇÃO					
FONTE	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>	FONTE	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>
<b>Reg.</b>	950	6	158	4,55	6,16	<b>Reg.</b>	1321	6	220	6,81	6,16
<b>Erro</b>	139	4	34			<b>Erro</b>	129	4	32		
<b>Total</b>	1089	10	193			<b>Total</b>	1450	10	252		
<b>R<sup>2</sup></b>	87%					<b>R<sup>2</sup></b>	91%				
CONVENCIONAL						CONVENCIONAL					
FONTE	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>	FONTE	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>
<b>Reg.</b>	382	6	63	0,39	6,16	<b>Reg.</b>	1644	6	274	2,66	6,16
<b>Erro</b>	660	4	165			<b>Erro</b>	412	4	103		
<b>Total</b>	1042	10	228			<b>Total</b>	2056	10	377		
<b>R<sup>2</sup></b>	36%					<b>R<sup>2</sup></b>	79%				
ASSISTIDO POR ULTRASSOM						ASSISTIDO POR ULTRASSOM					
FONTE	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>	FONTE	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>
<b>Reg.</b>	525	6	87	1,74	6,16	<b>Reg.</b>	1421	6	236	11,12	6,16
<b>Erro</b>	201	4	50			<b>Erro</b>	85	4	21		
<b>Total</b>	727	10	137			<b>Total</b>	1506	10	258		
<b>R<sup>2</sup></b>	72%					<b>R<sup>2</sup></b>	94%				

I (amostra seca em estufa); II (amostra liofilizada). SQ (Soma de quadrados); GL (Graus de liberdade); QM (Quadrado médio); Reg. (regressão); F<sub>c</sub> (F calculado); F<sub>t</sub> (F tabelado).

Os efeitos das variáveis massa, temperatura, ciclo de lavagem e tempo de extração e suas interações foram estudadas para a identificação do melhor método de extração de compostos bioativos nas amostras seca em estufa e liofilizada.

Como já mencionado sua comparação é vertical, a mesma é feita para os métodos de extração em cada amostra. A seguir serão apresentados em parte duas partes: respostas da amostra seca em estufa (I), e respostas da amostra liofilizada (II).

## 4.2.2 Análise dos extratos da amostra seca em estufa

### 4.2.2.1 Teor de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) determinado por Folin-Ciocalteu para cada extrato da amostra de jambolão seca em estufa, obtido pelos diferentes métodos de extração estão apresentados na Tabela 10. Esses compostos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante característica dos produtos naturais, no entanto, a determinação destes pelo método de Folin-Ciocalteu não caracteriza completamente a atividade antioxidante, pois expressa os valores em termos do teor de ácido gálico presente na amostra, representando apenas uma boa estimativa desta propriedade (ROGINSKY; LISSI, 2005).

Tabela 10 - Teor de compostos fenólicos totais (CFT), expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG/100g de extrato) para os extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO		
	SLP	SLC	SLU
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	465,97	943,83	497,62
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	420,14	507,09	902,78
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	734,63	458,33	577,16
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	372,63	729,17	636,57
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	398,55	788,76	518,12
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	528,36	611,11	625,66
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	461,58	986,11	794,44
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	597,53	655,83	575,58
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	551,49	639,53	529,13
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	486,11	544,04	509,26
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	482,1	803,74	490,31

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom;

De acordo com a Tabela 10, o conteúdo fenólico total para os extratos por percolação variou de 372,63 para 734,63 EAG/100g de extrato (ensaio 4 e ensaio 3 respectivamente), isso por conta da diminuição na massa, mantendo temperatura e ciclo constantes. Para extração sólido-líquido convencional os fenólicos totais variam entre 458,33 (ensaio 3) e 986,11 EAG/100g de extrato (ensaio 7), mostrando que no tempo mínimo de uma hora foi suficiente para a máxima extração nas condições aqui estabelecidas. No método com ultrassom, o teor de compostos fenólicos totais máximo foi 902,78 EAG/100g de extrato (ensaio 2: máxima massa e mínimo tempo).

Em estudos de extração de compostos fenólicos por diferentes métodos Mazzutti (2016) também encontrou valores máximos de CFT nas extrações usando a máxima temperatura. Esse fato foi atribuído às reações que ocorrem durante o processo de extração. O melhor método para a extração de compostos fenólicos totais na amostra seca em estufa foi o sólido-líquido convencional no ensaio 7 (3 g/50°C/5h).

Há grande variação no teor dos compostos fenólicos para os métodos de extração. As diferenças encontradas na literatura para uma mesma fruta ou vegetal depende, principalmente, das diferentes técnicas empregadas para a extração e quantificação destes compostos (TOMAS-BARBERAN; ESPIN, 2001; RAPISARDA et al., 1999).

#### 4.2.2.2 Teor de flavonoides totais

A determinação de flavonoides totais nos extratos da amostra de jambolão seca em estufa estão apresentados na Tabela 11.

No método de extração por percolação o extrato que apresentou maior valor de flavonoides totais foi o do ensaio 7 (3g/50°C/4 ciclos) com 103,59 mg/100g de extrato; em estudos semelhantes Faria-Machado (2010) encontrou 20,8 mg/100g de extrato em extratos de jambolão com etanol a 5% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

O conteúdo de flavonoides totais para os extratos sólido-líquido convencional variou de 179,40 (ensaio 6: 9g/30°C/5h) a 355,40 mg/100g de extrato (ensaio 4: 9g/50°C/1h). Este foi o melhor método de extração para a amostra seca em estufa. Em estudos semelhantes Faria-Machado (2010) encontrou 86,3 EAG/100g de extrato, em extrato com etanol a 5% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Esta diferença pode ser atribuída a variabilidade inerente da matéria-prima, bem como às diferenças na metodologia ou padrão de reação utilizados. Os fatores temperatura e tempo, têm efeito negativo quando em conjunto, sendo observado que embora os flavonoides sejam compostos termossensíveis a temperatura foi menos degradativa do que o

tempo de contato. Estudos com ácido ascórbico presente em frutas, tiveram resultados semelhantes quando se comparava a influência do tempo e da temperatura, sendo que a relação mínima temperatura e máximo tempo degrada o composto.

Tabela 11 - Teor de flavonoides totais (FT), expressos em mg/100 g de extrato, para os extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO		
	SLP	SLC	SLU
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	96,26	180,69	276,40
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	61,14	179,98	242,14
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	91,97	257,18	210,24
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	87,04	355,40	194,78
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	80,31	242,69	231,07
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	59,09	179,40	164,28
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	103,59	186,81	228,83
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	57,86	205,20	210,05
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	50,43	166,08	204,45
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	69,84	187,56	182,63
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	43,66	212,43	187,57

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom;

Apresentando valor 276,40 mg/100g de extrato, o ensaio 1 (3g/30°C/1h) foi o melhor resultado apresentado para FT em extração sólido-líquida assistida por ultrassom. Em estudos de extratos aquosos de bagaço de uva assistidos por maceração ultrassônica Oliveira (2010) encontrou 16,7 EAG/100g; esse valor é bem abaixo do encontrado no trabalho em questão; quando comparado com o método de soxhlet Oliveira (2010) encontrou valores mais altos (118 EAG/100g de extrato). Mesmo mudando o método de extração os valores estão abaixo do encontrado na extração utilizando água e variando tempo e temperatura.

#### 4.2.2.3 Teor de antocianinas totais

A leitura das antocianinas totais nos extratos da amostra de jambolão seca em estufa estão apresentados na Tabela 12.

O teor de antocianinas totais nos extratos por percolação, variaram de 252,19 a 642,5 mg/100g de extrato (ensaio 6 e 7 respectivamente); pode-se verificar que embora a temperatura tenha sido a máxima delineada neste estudo, o tempo em que essa variável esteve em contato com a amostra não foi suficiente para degradar as antocianinas.

Kapasakalidis et al., (2006) e Metivier et al., (1980) viram que os teores de antocianinas e compostos fenólicos totais são influenciados pelo tipo de solução utilizada para a extração.

Tabela 12 - Teor de antocianinas totais (AT), expressos em mg/100g de extrato, para os extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO		
	SLP	SLC	SLU
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	468,36	984,46	1328,46
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	328,66	968,91	1136,36
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	626,39	1611	1230,34
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	557,91	1404,68	1143,85
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	566,72	1489,23	1483,71
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	252,19	921,43	1088,84
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	642,50	1212,88	1408,31
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	230,27	1188,49	1173,44
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	299,16	960,16	1199,78
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	349,13	1071,91	935,11
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	246,98	1352,00	1122,47

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom;

Merece destaque também a quantidade de antocianinas totais extraídas pelo método sólido-líquido convencional 1611 mg/100g de extrato (ensaio 3: 3g/50°C/1h). O método de extração sólido-líquido assistido por ultrassom apresentou valor de antocianina máximo próximo ao encontrado no extração sólido-líquido convencional 1483,71 mg/100g de extrato (ensaio 5: 3g/30°C/5h); nesse método o possível aumento da temperatura causado pela agitação cria a necessidade de controle adequado. A temperatura de saturação do solvente também é um fator recorrente à extração.

A massa teve influência negativa, o que pode ser explicado pela saturação do solvente com o aumento da massa.

#### 4.2.2.4 Atividade antioxidante por DPPH e FRAP

Em estudos sobre a capacidade antioxidante, muitos pesquisadores avaliam a capacidade dos compostos fenólicos isoladamente. No entanto, há certa divergência na ordem de grandeza dos resultados de acordo com o método de avaliação utilizado. Yilmaz e Toledo (2004) compararam a capacidade de sequestro de radical peroxil

de alguns fenólicos e relataram os resultados e ordem decrescente apresentados: resveratrol > catequina > epicatequina > ácido gálico. Sánchez-Moreno et al. (1999) na comparação da atividade antioxidante de compostos fenólicos e antioxidantes comerciais (naturais e sintéticos), por dois métodos: inibição da oxidação de lipídios com resultados nessa ordem: Rutina = ácido ferrúlico > ácido tânico = ácido gálico = resveratrol > quercetina > tocoferol > ácido cafeico; e através do sequestro do radical DPPH obtendo alta atividade para o ácido gálico, atividade moderada para os ácidos quercitina, tânico e cafeico, BHA e rutina, e baixa atividade para resveratrol. Dessa forma, a avaliação desses compostos não se correlaciona diretamente a uma única análise da atividade antioxidante. É sugerido que a atividade antioxidante é influenciada também, pelos produtos das reações de Maillard e termoxidação que ocorrem em altas temperaturas, as quais são influenciadas pelos processos de extração (AMAROWICZ, 2010; RODRÍGUEZ-MEIZOSO et al., 2010).

A Tabela 13 apresenta os resultados da atividade antioxidante determinada através dos métodos DPPH e FRAP nos extratos da amostra seca em estufa obtidos por sólido-líquido percolado, sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistido por ultrassom.

Tabela 13 - Avaliação da atividade antioxidante dos extratos da amostra seca em estufa nos diferentes métodos de extração através do método DPPH e FRAP

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO					
	SLP		SLC		SLU	
	DPPH	FRAP	DPPH	FRAP	DPPH	FRAP
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	541	7903	542	3857	495	4465
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	643	11600	473	3906	628	4189
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	525	10778	415	4202	503	4204
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	498	11975	607	4335	578	3996
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	658	3480	511	3549	563	4627
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	710	6885	667	2898	358	4134
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	476	4564	520	3263	617	3969
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	587	5909	621	2820	535	4624
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	510	5671	457	5350	437	4036
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	560	5766	586	5015	475	3161
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	534	7254	675	5058	258	3575

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom; DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) com resultado em EC50; FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) com resultado em  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  de extrato.

O potencial antioxidante do extrato por DPPH é inversamente proporcional ao valor do EC50, ou seja, quanto menor o valor de EC50 apresentado pelo extrato, menor quantidade de amostra no extrato é necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH e, dessa forma, maior sua atividade antioxidante (SUCUPIRA et al., 2012).

A atividade antioxidante dos extratos obtidos por percolação identificou ensaios diferentes com melhor atividade, visto que cada método avalia a atividade por diferentes caminhos, no entanto pode-se verificar que a relação “mínima massa/ máximo ciclo” ou vice-versa, foram os fatores de referência para a melhor atividade antioxidante, (476 EC50, ensaio 7: 3g/50°C/4 ciclos para DPPH; e 11975 µmol/100g de extrato, ensaio 4: 9g/50°C/0 ciclos para FRAP).

A maior atividade antioxidante por DPPH foi obtida para o extrato assistido por ultrassom (358,76 EC50). Isso pode ser explicado pela forma de extração, pois as ondas proporcionam cavitação, o que resulta em maior transferência de massa entre o soluto e o solvente extrator.

### **4.2.3 Análise dos extratos da amostra liofilizada**

#### **4.2.3.1 Teor de compostos fenólicos totais**

Os fenólicos são relatados como os principais responsáveis pela atividade antioxidante característica dos produtos naturais (ROGINSKY; LISSI, 2005). O teor de compostos fenólicos totais (CFT) determinado por Folin-Ciocalteu para cada extrato da amostra de jambolão liofilizada, obtido pelos diferentes métodos de extração estão apresentados na Tabela 14.

De acordo com a Tabela 14, os compostos fenólicos totais variaram de 2046 (ensaio 5: 3g/30°C/4 ciclos) até 4777 EAG/100g de extrato (ensaio 2: 9g/30°C/0 ciclos) com a diminuição do ciclo de lavagem. Isso porque o volume do solvente tem o limite de extração por causa da sua saturação. Kang et al. (2006) determinaram o teor de CFT de soluções aquosas de pó da casca de laranja e encontraram 350 EAG/100g de extrato. Os valores encontrados nesta pesquisa, estão acima da faixa encontrada por Anagnostopoulou et al. (2006), que estudando extratos de casca de laranja obtidos com solventes orgânicos encontrou valores entre 300 a 10500 EAG/100g de extrato. Cruz (2010) em estudos de extração de compostos bioativos em bagaço de uva, encontrou valores otimizados para as condições de ensaio com máxima temperatura (285,14

EAG/100g de bagaço para fenólicos totais e 32,81 mg/100g para antocianinas totais) a temperatura em questão era 50°C.

Tabela 14 - Teor de compostos fenólicos totais (CFT), expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG/100g de extrato) para os extratos da amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO		
	SLP	SLC	SLU
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	3392	3601	3142
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	4777	4042	4465
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	3197	3277	1003
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	4677	1986	3208
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	2046	2824	2856
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	2566	5763	4091
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	3192	1971	1023
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	3275	3327	2734
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	2625	3775	3200
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	3109	3964	2575
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	2670	3321	2573

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom;

O conteúdo de CFT para os extratos sólido-líquido convencional, aumentaram significativamente do ensaio 7 (3g/50°C/5h) para o ensaio 6 (9g/30°C/5h) (1971 e 5763 EAG/100g de extrato, respectivamente), foi a melhor resposta dentre os extratos apresentados.

De acordo com a Tabela 14, a quantidade de compostos fenólicos totais encontrados nos extratos de jambolão da amostra SLU variam de 1003 a 4465 EAG/100g de extrato, sendo o mínimo no ensaio 3 (3g/50°C/1h) e o máximo para o ensaio 2 (9g/30°C/1h). Em estudos com extração assistido por ultrassom, utilizando água como solvente extrator no bagaço de uva syrah, Oliveira (2010) encontrou 2120 EAG/100g de extrato, utilizando 3g de amostra seca, com 50 ml de solvente por 30 min. Benelli (2010) em estudos de extração assistido por ultrassom em bagaço de laranja utilizando etanol, encontrou 4600 EAG/100g de extrato.

Além das interpretações individuais dos resultados, por intermédio do delineamento composto central 2<sup>3</sup>, foi possível medir o efeito da utilização das diferentes condições de massa, temperaturas, ciclo e tempo de extração bem como a interação entre eles em toda a faixa avaliada. Os efeitos podem ser melhor observados pelo Gráfico de Pareto, apresentado nas Figuras 15, 16 e 17.



As respostas com variáveis independentes significativas, foram avaliadas estatisticamente e estão apresentados nas Tabelas 15, 16 e 17 a seguir.

Figura 15 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e de interação das variáveis massa, temperatura e ciclo de lavagem para a resposta teor de compostos fenólicos totais na extração sólido-líquido percolado da amostra liofilizada

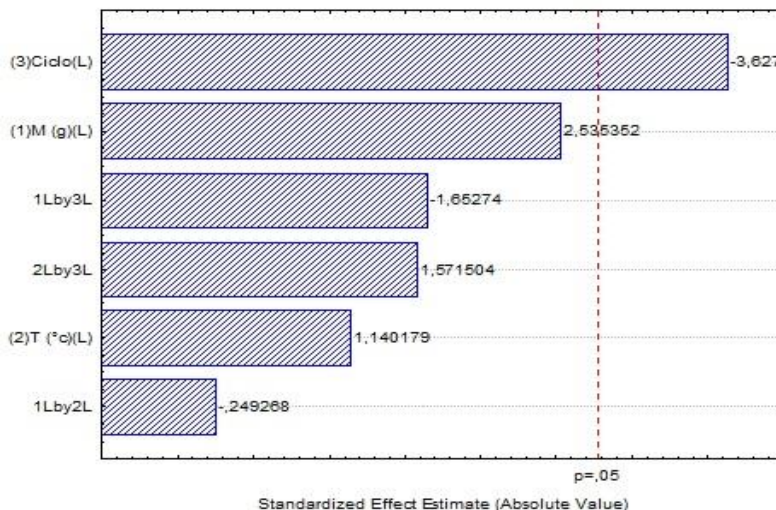


Tabela 15 - Análise de variância para o teor de compostos fenólicos totais na extração por percolação para a amostra liofilizada

FONTES	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>
<b>Regressão</b>	6116093	6	1019348	4,35	6,16
<b>Erro</b>	937835	4	234458		
<b>Total</b>	7053928	10	1253807		
<b>R<sup>2</sup></b>	86,73%				

Nível de significância,  $\alpha$ : 0,05 %; SQ (Soma de quadrados); GL (Graus de liberdade); QM (Quadrado médio); F<sub>c</sub> (F calculado); F<sub>t</sub> (F tabelado).

Embora o R<sup>2</sup> tenha apresentado um valor alto, o que é bom para o ajuste; a análise de variância e o teste Fisher mostram que os fatores de entrada não tem influência significativa na resposta dos compostos fenólicos totais, como pode ser observado no gráficos de Pareto da Figura 16. No entanto, é importante deixar claro que o ensaio que apresentou melhores respostas foi o ensaio 2 (9g/30°C/0 ciclo - única passagem).

Figura 16 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e de interação das variáveis massa, temperatura e tempo de extração para a resposta teor de compostos fenólicos totais na extração sólido-líquido convencional da amostra liofilizada

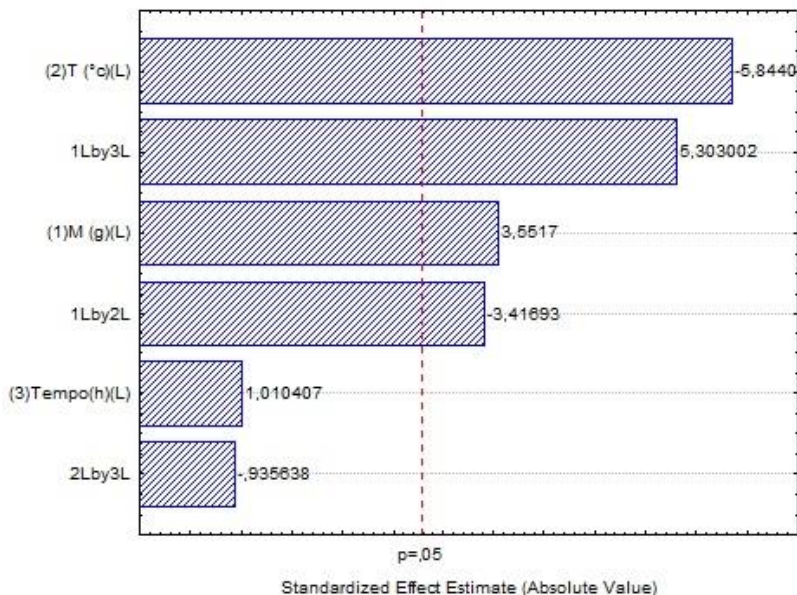


Tabela 16 - Análise de variância para o teor de compostos fenólicos totais na extração sólido-líquido convencional para a amostra liofilizada

FONTES	SQ	GL	QM	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>
<b>Regressão</b>	10405323	6	1734220	14,74	6,16
<b>Erro</b>	470501	4	117625		
<b>Total</b>	10875824	10	1851845		
<b>R<sup>2</sup></b>	95,67%				

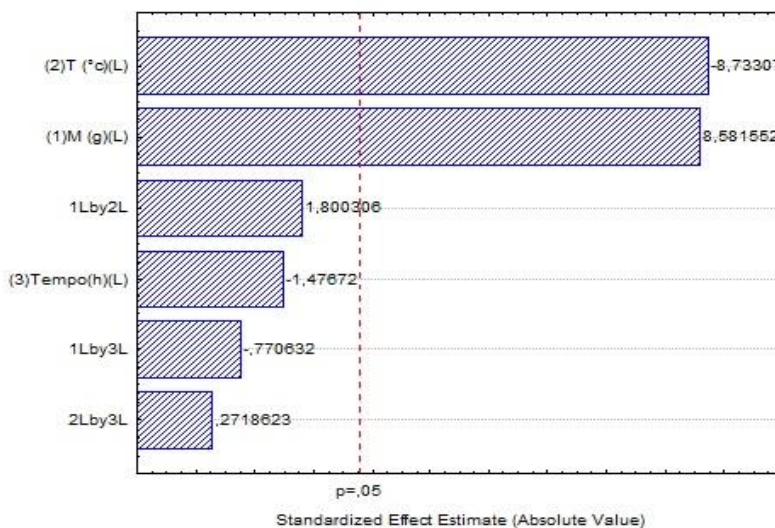
Nível de significância,  $\alpha$ : 0,05 %; SQ (Soma de quadrados); GL (Graus de liberdade); QM (Quadrado médio); F<sub>c</sub> (F calculado); F<sub>t</sub> (F tabelado).

O Gráfico de Pareto (Figura 16) ilustra a influência significativa das variáveis independentes sobre as respostas. A temperatura é o fator de maior interferência nos resultados de composição dos extratos, isso porque os compostos bioativos são termosensíveis, assim o aumento da temperatura causa degradação dos componentes, como pode ser observado pelos valores de compostos fenólicos totais (AZEVEDO et al,

2014; OLIVEIRA e PETROVICK, 2010 e FUJITA et al, 2013). A massa juntamente com a temperatura, tiveram influência negativa quando seus parâmetros foram aumentados, o que pode ser explicado pela degradação causada pela temperatura e à saturação do solvente com o aumento da massa.

O  $R^2$  representou 95% da significância para o ajuste e a análise de variância pelo teste F mostra que as variáveis, embora influentes na resposta dos compostos fenólicos totais; quando comparados para os 11 ensaios não há diferença estatística significativa, apesar disto é importante salientar que a condição do ensaio 6 (9g/30°C/5h) teve resultados expressivos quanto aos compostos fenólicos totais, podendo assim conservar componentes de interesse para posterior aplicação.

Figura 17 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e de interação das variáveis massa, temperatura e tempo de extração para a resposta teor de compostos fenólicos totais na extração SLU da amostra liofilizada



De acordo com o Gráfico de Pareto (Figura 17) e a partir dos valores de compostos fenólicos totais pode-se concluir que, a temperatura é o principal interferente na extração, tendo resultado significativo negativo, ou seja, quando aumenta a temperatura de extração diminui a quantidade de compostos no extrato, isso devido a sensibilidade desses compostos quando expostos a temperaturas mais elevadas. Para as

antocianinas o máximo extraído foi alcançado no tempo mínimo de 1 hora.

Para variáveis independentes significativas, seguiu-se a análise de variância. A Tabela 17 a seguir, mostra a (ANOVA) para os valores de Compostos Fenólicos Totais.

Conforme demonstram os dados da tabela 17 pela observação do valor de  $R^2$ , pode-se afirmar que os mesmos são adequados para a extração de compostos bioativos na amostra liofilizada em extração assistida por ultrassom tendo como solvente a água.

Os resultados obtidos neste trabalho levaram a um modelo preditivo significativo no método de extração sólido-líquido assistido por ultrassom para o teor de compostos fenólicos totais, uma vez que o  $R^2$  se obteve um bom ajuste ( $R^2 = 0,97$ ) com o  $F_{\text{calculado}}$  4,22 vezes maior que o  $F_{\text{tabelado}}$  obtido na tabela de distribuição de Fisher (NETO et al., 2010).

Tabela 17 - Análise de variância para o teor de Compostos Fenólicos Totais na extração sólido-líquido assistida por ultrassom para a amostra liofilizada

<b>FONTES</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F<sub>c</sub></b>	<b>F<sub>t</sub></b>
<b>Regressão</b>	11092364	6	1848727	<b>26,00</b>	<b>6,16</b>
<b>Erro</b>	284421	4	71105		
<b>Total</b>	11376785	10	1919832		
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>97,50%</b>				

Nível de significância,  $\alpha$ : 0,05 %; SQ (Soma de quadrados); GL (Graus de liberdade); QM (Quadrado médio); F<sub>c</sub> (F calculado); F<sub>t</sub> (F tabelado).

O modelo que descreve o comportamento dos compostos fenólicos totais (EAG/100g de extrato) da amostra liofilizada de jambolão é representado pela Equação 10, mostrado abaixo.

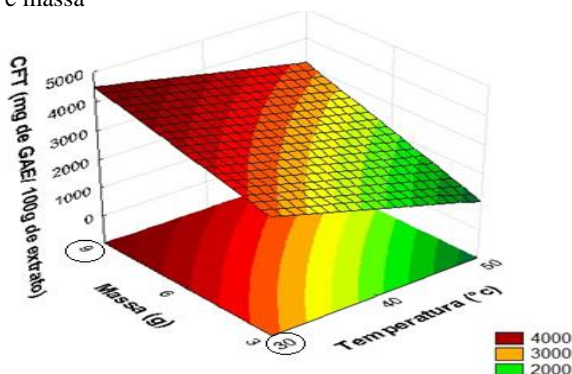
$$\text{CFT} = 2806,969 + 809,044 m - 823,328 T \quad (10)$$

Em que CFT = compostos fenólicos totais; m = massa; T = temperatura.

O modelo de sistema representado pela equação 10 foi construído a partir dos coeficientes de regressão das variáveis de processo significativas, neste caso temperatura e massa. A equação foi construída a partir das variáveis codificadas (-1, 0, +1). De acordo com os resultados da ANOVA e do teste de Fisher, a equação do modelo gerado é significativa e preditiva, portanto, o uso de variáveis codificadas permite a previsão dos valores de CFT para os extratos da amostra liofilizada.

Uma vez que o modelo é significativo, é possível gerar superfícies de resposta para melhor visualizar as regiões de valores máximo e mínimo de compostos fenólicos, como mostra a Figura 18.

Figura 18 - Superfície de resposta para o fatores de entrada significativos na extração de compostos fenólicos totais por SLU na amostra liofilizada, temperatura e massa

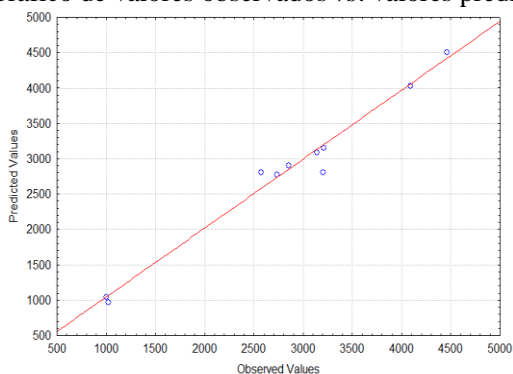


Analisando a superfície de resposta, nota-se que temperatura teve maior influência do que a massa, no valor dos compostos fenólicos totais. Quando trabalhou-se com temperatura mínima, independentemente da massa utilizada, maior foi o teor de CFT encontrado nos extratos.

Mediante a análise da superfície de resposta a extração dos CFT na amostra de jambolão liofilizado teve nível ótimo no ponto que utilizou a massa de 9g e a temperatura de 30°C. Tendendo a aumentar em temperatura mais baixa e massas maiores.

O ajuste do modelo pode também ser verificado por meio do gráfico de valores observados vs. valores preditos, apresentado na Figura 19, em que a distribuição dos pontos (valores observados) encontra-se, de forma geral, próxima à reta (valores preditos).

Figura 19 – Gráfico de valores observados vs. valores preditos



#### 4.2.3.2 Teor de flavonoides totais

Na percolação, os flavonoides totais tem resposta aumentada quando o ciclo aumenta, indo de 216 (ensaio 5: 3g/30°C/4 ciclos) para 341 mg/100g de extrato (ensaio 1: 3g/30°C/0 ciclos), isso porque o contato entre as partes é aumentada com o aumento dos ciclos. A atividade antioxidante está provavelmente associada à presença dos compostos fenólicos e flavonoides.

A extração com água resulta em maior concentração das capacidades bioativas presentes no fruto *in natura*, por causa da atração de compostos de mesma polaridade.

O conteúdo de flavonoides totais para os extratos sólido-líquido convencional variaram de 259,29 (ensaio 7: 3g/50°C/5h) a 379,62 mg/100g de extrato (ensaio 2: 9g/30°C/1h). A leitura máxima por este método quando comparada com o método por percolação não difere tanto. Considerando o tempo requerido o método de extração por percolação é mais efetiva.

A leitura de flavonoides totais nos extratos da amostra de liofilizada estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Teor de flavonoides totais (FT), expressos em mg/100g de extrato para a amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO		
	SLP	SLC	SLU
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	341,38	300,86	336,50
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	299,76	379,62	265,65
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	292,82	340,86	294,78
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	297,66	325,04	356,86
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	216,96	359,38	333,97
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	319,25	313,75	299,59
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	227,10	259,29	281,55
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	329,85	310,56	243,14
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	237,24	261,93	257,30
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	299,22	318,56	294,23
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	282,47	325,98	256,46

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom;

#### 4.2.3.3 Teor de antocianinas totais

A leitura das antocianinas totais nos extratos da amostra liofilizada estão apresentados na Tabela 19.

Para a percolação, as antocianinas totais (ensaio 1 de 1444 a 2081mg/100g de extrato no ensaio 8), tem seu resultado aumentado quando a temperatura e o ciclo são os máximos no mesmo ensaio. Como o tempo de contato é rápido embora a temperatura tenha aumentado, não “passa” tempo suficiente que interfira na conservação das antocianinas. Santos (2015), estudando variação de razão massa de soluto por temperatura de solvente extrator, encontrou valores máximos para antocianinas quando a temperatura do solvente extrator aumentava (32,94 mg/100g). Assim a massa é o menor fator de influência e como verificado nos demais ensaios é inversamente proporcional a resposta de antocianinas. Cruz (2010) em estudos de extração de compostos bioativos em bagaço de uva, encontrou valores otimizados para as condições de ensaio com máxima temperatura (285,14 EAG/100g de bagaço para fenólicos totais e 32,81 mg/100g para antocianinas totais) a temperatura em questão era 50°C.

Tabela 19 - Teor de antocianinas totais (AT), expressos em mg/100g de extrato para os extratos da amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO		
	SLP	SLC	SLU
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	1444	1975	2221
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	964	2165	1771
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	1746	2769	2460
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	1747	2194	2405
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	1669	2479	1716
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	1865	1902	1701
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	1685	1824	2116
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	2081	2095	1631
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	1780	1964	1830
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	2016	2105	1878
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	1878	2022	1761

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom;

O valor das antocianinas totais para o método sólido-líquido convencional é representado para o extrato do ensaio 3 (3g/50°C/1h) com 2769 mg/100g de extrato, o maior valor encontrado para os extratos da amostra liofilizada. Em extratos etanoicos Santos (2015) encontrou 32,94 mg/100g de extrato em jambolão também liofilizado. Ao extrair pigmentos antociânicos com solução extratora contendo etanol e ácido

clorídrico, Faria, Marques e Mercadante (2011), reportam para o fruto de jambolão, resultados inferiores ao desta pesquisa, de  $210 \pm 9,1$  mg/100g. Santos (2015) realizando extração com etanol encontrou valores variando de 7,68 a 8,68 mg/100g, variando massa, temperatura e tempo; o valor máximo de compostos fenólicos totais foi encontrado para a máxima temperatura e tempo do estudo (40°C/4h).

#### 4.2.3.4 Atividade antioxidante por DPPH e FRAP

A atividade antioxidante está provavelmente associada à presença dos compostos fenólicos e flavonoides. A Tabela 20 apresenta os valores da atividade antioxidante determinada através dos métodos DPPH e FRAP nos extratos da amostra liofilizada obtidos por percolação, sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistido por ultrassom.

De um modo geral os extratos da amostra liofilizada apresentaram maior atividade antioxidante. Essa resposta pode ser relacionada a maior extração dos compostos, devido a porosidade da partícula e ao tamanho, uma vez que quanto menor a partícula, maior a área de contato entre as partes soluto e solvente.

Tabela 20 - Avaliação da atividade antioxidante dos extratos da amostra liofilizada nos diferentes métodos de extração através do método DPPH e FRAP

ENSAIO	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO					
	SLP		SLC		SLU	
	DPPH	FRAP	DPPH	FRAP	DPPH	FRAP
(3g/ 30°C/ 0c – 1h)	75,33	16100	180,40	17445	157,82	15458
(9g/ 30°C/ 0c – 1h)	90,13	16909	93,05	15871	95,83	15415
(3g/ 50°C/ 0c – 1h)	87,46	15730	152,10	10465	153,92	8439
(9g/ 50°C/ 0c – 1h)	83,27	15838	166,68	19819	143,46	11645
(3g/ 30°C/ 4c – 5h)	251,95	13159	154,01	14029	142,82	11938
(9g/ 30°C/ 4c – 5h)	86,14	15958	104,60	18162	100,87	14908
(3g/ 50°C/ 4c – 5h)	82,67	16983	272,72	9546	215,85	7776
(9g/ 50°C/ 4c – 5h)	83,99	16823	145,13	13573	71,80	12171
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	150,87	15036	188,37	14703	132,48	13088
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	157,74	12709	119,55	13492	166,58	13813
(6g/ 40°C/ 2c – 3h)	103,82	15110	148,91	13311	144,50	12781

Métodos de extração: SLP = Sólido-Líquido percolado, SLC = Sólido-Líquido Convencional, SLU = Sólido-Líquido assistida por ultrassom; DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) com resultado em EC50; FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) com resultado em  $\mu\text{mol}/100\text{g}$  de extrato.



A medida da atividade antioxidante foi diferente para cada um dos métodos, visto que cada método avalia a atividade por diferentes caminhos, o melhor resultado para o método DPPH foi para o ensaio 8 (9g/50°C/5h) com EC50 de 71,8 pelo método de extração assistida por ultrassom.

Em análise de atividade antioxidante por DPPH, Oliveira (2010) encontrou na uva da variedade syrah EC50 346, no mesmo estudo com água como solvente em extração assistida por ultrassom para a uva da variedade merlot o valor de EC50 encontrado foi de 1321. O potencial antioxidante do extrato por DPPH é inversamente proporcional ao valor do EC50, ou seja, quanto menor o valor de EC50 apresentado pelo extrato, menor quantidade de amostra no extrato é necessária para reduzir em 50 % a concentração inicial do DPPH e, dessa forma, maior sua atividade antioxidante.

Um cuidado a ser tomado nesse tipo de extração é o controle das variáveis de processo: massa, temperatura e tempo mantido sob a frequência ultrassônica para a estabilidade dos compostos, evitando degradações e perdas de atividade (JOANA GIL-CHÁVEZ et al., 2013).

#### 4.3 PERFIL QUÍMICO DOS MELHORES EXTRATOS

A determinação do perfil químico dos extratos foi realizado apenas para alguns extratos, selecionados em função dos resultados de compostos fenólicos totais. A Tabela 21 apresenta os ensaios dos melhores extratos de cada método de extração.

Tabela 21 – Ensaios e leitura de CFT dos melhores extratos das amostra seca em estufa e liofilizada nos diferentes métodos de extração

MÉTODOS	ENSAIO	CFT
<b>SECA EM ESTUFA</b>		
SLP	E3 (3g/50°C/0c)	734
SLC	E7 (3g/50°C/5h)	986
SLU	E2 (9g/30°C/1h)	902
<b>LIOFILIZADA</b>		
SLP	E2 (9g/30°C/1h)	4777
SLP	E3 (9g/30°C/5h)	4465
SLU	E2 (9g/30°C/1h)	4465

Métodos de extração: SLP = sólido-líquido percolado, SLC = sólido-líquido convencional, SLU = sólido-líquido assistida por ultrassom; CFT (compostos fenólicos totais) expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG/100g de extrato)

Os resultados de CFT são bastante variados, tendo em vista que a concentração do composto varia em função do clima, estágio de maturação, método de extração, dentre outros fatores. Vasco et al. (2008), em estudos conduzidos em frutos do Equador, classificam os frutos de acordo com a concentração de CFT em níveis: baixo (inferior a 100mg EAG/100g), médio (entre 100 a 500mg EAG/100g) e alto (acima de 500mg EAG/100g). Com base nesse conceito, a polpa e as amostras secas de jambolão podem ser considerados como sendo produtos com alto teor de compostos fenólicos.

#### **4.3.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas**

A Tabela 22 apresenta a lista dos componentes identificados nos extratos selecionados da amostra seca em estufa e da amostra liofilizada.

Tabela 22 – Compostos identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas nos extratos de jambolão

COMPOSTOS QUÍMICOS	TR (min)	% ÁREA					
		SECO EM ESTUFA			LIOFILIZADO		
		SLP	SLC	SLU	SLP	SLC	SLU
Ácido benzoico, éster metílico	11,06	1,19	2,6	3,04	2,92	2,95	4,25
Butirolactona	5,25		1,07	5,45		1,19	1,54
Biciclo (2,2,1) heptano, 2-cloro-2,3,3-trimetil	22,50			40,3			
Ácido bis (2-metilpropílico) do ácido 1,2-benzenodicarboxílico	40,85			12,0			
Canfeno	22,50		34,6				
Ciclo-hexano, 1-metil-3-(1-metiletetil)-, (+/-)	22,50	49,9			46,2	21,8	34,6
Ftalato de dietilo	31,20	1,33				0,84	
Etanona, 2,2-dimetoxi-1,2-difenil	41,38				7,83		
1,2-diacetato de glicerol	21,60					0,66	
Heptano, 2,2,3,5-tetrametil-	7,29				1,7		
Ácido Hexadecanoico, éster metílico	42,77	6,29	2,0	2,47	3,8	1,92	3,91
Ácido ftálico, éster 5-metil-hex-2-ilbutílico	40,85	4,7					
Ácido ftálico, éster trans-hex-3-enílico de isobutilo	40,85				2,23		
Ácido ftálico, éster isobutílico de decilo	40,85					4,31	
Ácido ftálico, éster etílico do ácido 2-etoxietilo	31,20						1,12
Ácido pentanoico, éster isobutílico do éster isobutílico do ácido ddd-trimetil d-carboxiisopropilo	31,33						1,39
2,2,7,7-Tetrametiloctano	7,30						1,11

Onde: TR - tempo de retenção (min) e Área % - área relativa detectados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). SLP (sólido-líquido percolado); SLC (sólido-líquido convencional); SLU (sólido-líquido assistido por ultrassom)

O perfil dos compostos voláteis dos extratos foi obtido por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM), os compostos químicos foram identificados baseando-se na comparação do espectro de massa da substância com um sistema de banco de dados para CG-EM. Os espectros de massas de todos os extratos de jambolão estão apresentados no Apêndice B.

A partir dos dados da Tabela 22, observa-se que foram identificados dezenove compostos presentes nos diferentes extratos. O principal composto identificado em termos de percentual de área relativa dos extratos foi o Ciclo-hexano,1-metil-3-(1-metiletênil)-, (+/-) também conhecido como carvestreno, independente da técnica de extração empregada, esse composto foi identificado em praticamente todos os extratos, porém com maior área de retenção nos extratos por percolação.

Ciclo-hexano,1-metil-3-(1-metiletênil), também conhecido como carvestreno, é um isômero do limoneno. O limoneno, é um composto orgânico pertencente à família dos terpenos, é o responsável pelo aroma forte dos citrinos. Apresentando-se principalmente sob a forma do isômero D, este quando puro, é um líquido incolor, com um aroma cítrico, tem ponto de fusão  $-74,35^{\circ}\text{C}$  e ponto de ebulição de  $170$  a  $180^{\circ}\text{C}$ , com densidade de  $0,85$ . Reage facilmente com a humidade atmosférica, oxidando-se e dando origem a carveol, carvona, e no seu óxido. O limoneno é comumente utilizado em cosmética, como constituinte de perfumes, além disso, o D-limoneno é usado na indústria alimentar para mascarar o sabor amargo dos alcalóides de alguns alimentos, e na agricultura também é usado como inseticida, e como desinfetante em toalhetes para as mãos, pelo seu alto poder antimicrobiano. Pode ser utilizado para dissolver poliestireno, constituindo uma alternativa à acetona (ChemSpider; DESBOIS; SMITH, 2010; ZHENG et al., 2005; ZHOU et al., 2013).

O canfeno foi encontrado em grande quantidade no extrato da amostra seca em estufa, sendo ele obtidos por sólido-líquido convencional, com  $9\text{g}$  de massa a  $30^{\circ}\text{C}$  por  $5\text{h}$ . Esse composto é um monoterpeno bicíclico. Segundo Simões et al.(2007) os terpenos ou terpenoides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo o termo empregado para todas as substâncias cuja origem biossintética é o isopreno. Os compostos terpênicos são frequentes nos óleos essenciais como monoterpenos ( $90\%$  dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos. Este composto é encontrado em sementes, flores, folhas, raízes e madeira de plantas assim como em musgos e algas. Os monoterpenos oxigenados são alvos de interesse para as indústrias de

química fina, de agroquímicos e de fragrância, dentre outras aplicações (MAIA, 2016).

Merecem destaque os compostos ácido hexadecanóico, éster metílico (ácido graxo, ácido palmítico) e ácido benzoico, éster metílico (composto aromático). Em estudos com mangaba, extratos a baixas e altas pressões, Maia (2016) encontrou ácido palmítico em todos os extratos. Mazzutti (2016) em estudos com extração supercrítica de compostos em *Plantago major* e *Plantago lanceolata* encontrou em todas as condições de extração, consideráveis quantidades de ácido palmítico.

O ácido graxo palmítico apresenta diversas atividades biológicas como: antioxidante, hipocolesterolêmica, e também atividades nematocida e pesticida (DUKE; BECKSTROM-STERNBERG, 2015). Além disso, apresenta atividade antimicrobiana, tanto para bactérias Gram-positivas como para Gram-negativas.

O ácido benzóico é um composto aromático, classificado como ácido carboxílico; é um ácido fraco usualmente aplicado como conservante de alimentos, é de ocorrência natural em certas plantas. Seu anel aromático é similar ao do benzeno e é o mais simples ácido carboxílico aromático. Apresenta-se como um sólido cristalino incolor (DESBOIS; SMITH, 2010; ZHENG et al., 2005; ZHOU et al., 2013). O ácido benzoico é um importante precursor para a síntese de muitas outras substâncias orgânicas. Entre os derivados do ácido benzoico se encontram o ácido salicílico e o ácido 2-acetilsalicílico (ou o-acetilsalicílico), também conhecido como aspirina.

A composição química dos compostos voláteis presentes nos extratos de jambolão enriquecem e agregam valor pois, os compostos identificados apresentam importantes atividades biológicas, o que pode sugerir a utilização dos extratos em variadas aplicações terapêuticas, sendo necessário, um estudo sobre a viabilidade econômico da extração destes compostos.

### **4.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

Na Tabela 23 é possível observar para os melhores extratos de jambolão de ambas as amostras estudados, o conteúdo de compostos quantificados pela cromatografia líquida.

Tabela 23 - Perfil de composição dos extratos de jambolão determinado por cromatografia líquida de alta eficiência em detector de arranjo de diodo

COMPOSTOS	CONCENTRAÇÃO (mg/100g DE EXTRATO)					
	SECO EM ESTUFA			LIOFILIZADO		
	SLP	SLC	SLU	SLP	SLC	SLU
<b>FENÓLICOS</b>						
Ácido trans-cafáico	0,74	0,90	0,74	0,80	0,66	0,81
Tirosol	14,19	17,12	9,61	16,05	10,22	11,78
(+)- Catequina	20,62	32,06	7,29	15,01	8,56	15,56
Ácido caféico	0,12	0,21	0,12	0,06	0,10	0,13
(+)- Epicatequina	8,65	8,66	7,43	5,97	6,39	6,85
ácido P-cumárico	1,50	1,57	1,51	1,43	1,35	1,47
Ácido férúlico	0,18	0,22	0,17	0,15	0,14	0,16
Miricetina	0,95	1,67	0,98	1,21	0,98	1,20
Trans-resveratrol	0,89	0,86	0,86	n.q.	n.q.	n.q.
Quercetina	1,30	1,35	1,30	1,32	1,21	1,35
Kaempfenol	1,01	1,02	0,99	1,00	0,92	1,03
<b>ANTOCIANINAS</b>						
Cyanidin-3,5-diglucoside	16,32	31,91	20,03	27,95	20,27	27,10
Delphinidin-3-O-glucoside	6,26	8,27	6,96	7,82	8,51	10,71
Malvidin-3,5-diglucoside	2,39	3,97	1,93	4,21	2,42	3,04
Cyanidin-3-O-glucoside	10,39	19,02	10,17	20,54	12,44	17,25
Peonidin-3-O-glucoside	0,11	0,13	0,11	0,23	0,08	0,11
Malvidin-3-O-glucoside	0,34	0,59	0,24	0,66	0,40	0,54

Onde: SLP (sólido-líquido percolado); SLC (sólido-líquido convencional); SLU (sólido-líquido assistido por ultrassom)

Os compostos fenólicos encontrados em maior concentração nos extratos foram os flavanóis, com destaque a (+)-catequina, tirosol e a epicatequina. O teor de catequina variou entre 7,29 a 32,06 mg/100g de extrato. As maiores concentrações foram para o extrato por sólido-líquido convencional da amostra seca em estufa, no entanto o valor da amostra liofilizada por percolação apresentou valores semelhantes. A epicatequina teve uma pequena variação entre os extratos (5,97 a 8,66 mg/100g de extrato). Esses valores encontrados mostram que a granulometria e a porosidade das amostras são fatores chave na reação de extração, uma vez que em comparação de métodos o sólido-líquido percolado é mais rápida que o método sólido-líquido convencional, onde um tempo maior é aplicado no processo.

Os extratos em questão apresentaram valores de tirosol entre 9,61 e 17,12 mg/100g de extrato (para ambas as amostras, valores mínimo e máximo, respectivamente). O tirosol é um metabólito secundário da tirosina. Amostras de vinhos apresentaram concentrações de tirosol que variaram entre 9,04 a 46,86 mg/100g, em estudos de identificação e quantificação de tirosol em vinhos de várias cidades da região sul e sudeste do país. Sartor (2014) encontrou 28,57 mg/100g. Piñeiro et al. (2011) em estudos com diferentes vinhos tintos espanhóis, encontrou para a variedade Syrah A 34,11 mg/L e B 40,98 mg/L, cultivadas sob diferentes condições de vinificação. Esses autores sugerem que uma série de fatores como temperatura, disponibilidade de nitrogênio e teor de açúcar das uvas podem afetar a atividade da levedura durante a fermentação, o que conseqüentemente altera os valores de tirosol no vinho.

Um componente identificado que merece destaque é o trans-resveratrol, ele é o estilbeno mais abundante em uvas, enquanto que o isômero cis é formado durante o processo de vinificação. Esse isômero é produzido nas plantas em resposta à infecção por fungos, ou por estresse pós-colheita (luz ultravioleta e aplicação de herbicidas). Atua como fitoalexinas em resposta a estes fatores causado pelo meio ambiente (VITRAC et al., 2005).

Entre os estilbenos, o trans-resveratrol é amplamente estudado por ter importante papel na saúde, principalmente devido ao seu potencial antioxidante e seu efeito cardioprotetor (VITRAC et al., 2005). O trans-resveratrol foi identificado e pôde ser quantificado nos extratos da amostra seca em estufa, já a sua identificação nos extratos da amostra liofilizada foi juntamente com outros compostos no mesmo pico, o que causa uma interferência para a sua quantificação. Nos extratos quantificados o trans-resveratrol foi quantificado em 0,86 mg/100g de

extrato; em identificação compostos em vinhos Sartor (2014) encontrou para vinhos de diferentes cidades do sul do Brasil concentrações que variaram entre 0,50 a 4,94 mg/100g, isso porque condições climáticas específicas da região de cultivo, que é diferente para cada safra, considerando que o clima influencia a síntese de estilbenos, uma vez que estes são sintetizados em condições de estresse (VITRAC et al., 2005).

O extrato do jambolão apresentou os seis tipos de antocianinas do padrão de comparação. No Apêndice C, estão apresentados os cromatogramas das antocianinas dos extratos de jambolão.

A antocianina majoritária nos extratos de jambolão foi a cianidina-3,5-diglucósido (31,91 no extrato sólido-líquido convencional da amostra seca em estufa e 27,92 mg/100g no extrato por percolação da amostra liofilizada), seguido de cianidina-3-O-glucósido (19,02 para o extrato sólido-líquido convencional da amostra seca em estufa e 20,54 mg/100g no extrato percolado da amostra liofilizada) as identificações foram confirmadas pela comparação dos tempos de retenção com os de padrões autênticos. Os resultados estão coerentes com relatos de estudos anteriores, Brito et al. (2007) e Li et al. (2009) também identificaram 3,5-diglucosídeos de cianidina. Em todos os trabalhos citados a identificação de antocianinas baseia-se, em dados obtidos por espectrometria de massas, sendo que Li et al. (2009) fez a identificação das antocianinas por meio de ressonância magnética nuclear (RMN). Em um estudo de diferentes sistemas de eliminação de radicais livres, observou-se que a pele do fruto do jambolão apresentou atividade antioxidante significativa, que foi atribuída em parte a vitaminas antioxidantes, fenólicos ou taninos e/ ou antocianinas (BRITO et al., 2007).



## 5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados, a água pode ser utilizada como solvente para a obtenção de compostos antioxidantes de jambolão empregando as técnicas de extração por percolação, sólido-líquido convencional e sólido-líquido assistido por ultrassom. Dentre as três, as mais eficientes na extração de acordo com o resultado de compostos fenólicos totais e pela atividade antioxidante foram: o método sólido-líquido convencional para a amostra seca em estufa e sólido-líquido percolado para a amostra liofilizada.

As extrações sólido-líquido convencional na amostra seca em estufa apesar de não manter os teores apresentados no fruto *in natura*, e mostrarem-se inferiores quando comparados à amostra liofilizada, apresentaram valores significativos de compostos bioativos (antocianinas e polifenóis totais) e quando comparados a outras pesquisas com extratos de jambolão com solventes orgânicos e por outros métodos de extração, os resultados apresentados nesta pesquisa são superiores.

O principal composto volátil encontrado nos extratos de casca e polpa de jambolão por cromatografia gasosa foi o ciclo-hexano, 1-metil-3-(1-metiletenil), com maior área de retenção nos extratos da matéria-prima liofilizada para as técnicas por percolação e assistido por ultrassom nas condições do ensaio 2 (9g/30°C/ 0c-1h) e no extrato da matéria-prima seca em estufa obtido por percolação na condição do ensaio 3 (3g/50°C/ 0c). Outros compostos importantes de interesse para a indústria química e farmacêutica também foram identificados.

Dentre os componentes quantificados pela cromatografia líquida de alta eficiência nos extratos de jambolão, em maior quantidade foram as antocianinas: cyanidin-3,5-diglucoside; cyanidin-3-O-glucoside; e os fenólicos: catequina, tirosol e epicatequina.

As análises serviram para comprovar o alto poder bioativo dos extratos aquosos de jambolão.



## 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Desenvolver um produto alimentício com a aplicação do extrato de jambolão e posterior análise sensorial, visualizando aplicação como antioxidante;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos obtidos; frente às bactérias *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*;
- Avaliar o potencial com a atividade anti-inflamatória e antitumoral;
- Avaliação do potencial antioxidante *in vivo* dos extratos empregando culturas de células endoteliais;
- Purificar a antocianina majoritária e realizar testes para posterior aplicação;
- Micronizar e encapsular os melhores extratos de jambolão;
- Testar a atividade antimicrobiana dos extratos micronizados e encapsulados.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.P., P.Kefalas: Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, 15, 655-665, 2002.

ADAMS, M. M. Estudo de diferentes métodos de extração por ultra-som de pesticidas em latossolo utilizando técnicas cromatográficas. **Dissertação de Mestrado. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre/RS, 2002.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition, New York**, v.18, n.1, p.75-81, 2002.

ALBERTON, J. R.; RIBEIRO, A.; SACRAMENTO, L. V. S.; FRANCO, S. L. Caracterização farmacognóstica do jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Rev. Brasileira de Farmacog.**, v. 11, n.1, p. 37 - 50, 2001.

AMAROWICZ R, ESTRELLA I, HERNANDEZ T, ROBREDO S, TROSZYNSKA A, Kosinska A, Pegg RB Treatment of common diseases with drug liquors. **Food Chemistry**. 121:705, 2010.

ANAGNOSTOPOULOU, M. A.; KEFALA, P.; PAPAGEROGIOU, V. P.; ASSIMOPOULOU, A. N.; BOSKOU, D. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). **Food Chemistry**, v. 94, p. 19-25, 2006.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão, **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 1-9, 2007.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR., L. V. Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000. p. 516 – 518.

ARAÚJO, A. L. M. Polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) desidratada por liofilização e secagem em leito de jorro: caracterização físico-química e funcional e impacto da secagem / **Dissertação de mestrado apresentado ao programa de pós graduação em engenharia química, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, 2014.

ARAÚJO, J. M. A., Química de alimentos: teoria e prática, 5ªed, Viçosa, MG: ed UFV, 2011.

ARAYA, H. L.; CLAVIJO, C. R.; HERRERA, C. Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. **Archivos latino americanos de nutrición**, v. 56, p. 361-364, 2006.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, p. 419-421, 2000.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. Syzygium cumini (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Singapore, v. 2, n. 3, p. 240-246, 2012.

AZEVÊDO, J. C. S.; FUJITA, A; OLIVEIRA, E. L.; GENOVESE, M. I.; CORREIA, R. T. Dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K McVaugh) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian power with functional attributes. **Food Research International**, v. 62; 934-940, 2014.

BARCIA, M. T. Composição centesimal e de fitoquímicos em Jambolão (*Syzygium cumini*) / **Dissertação de Mestrado –Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2009.**

BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração.**2010. Dissertação (mestrado em engenharia de alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil, 2010.

BEZERRA, M. F. **Polpa de jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) fresca e desidratada: características físico-químicas, bioativas e funcionais, efeitos biológicos em *Caenorhabditis elegans* e uso para produção de frozen yogurt caprino probiótico/** Dissertação de mestrado Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil, 2015.

BOBBIO P.A. e BOBBIO F.O. Química do processamento de alimentos, 2º ed. São Paulo: Editora Varela, (1995).

BOX, G.E.P., WETZ, J. Criteria for Judging Adequacy of Estimation by an Approximating Response Function. (No. UWIS-DS-73-9). Wisconsin Univ. Madison Dept. of Statistics, 1973.

BRENNA, O. V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4841-4844, 2001.

BRITO, E. S. de; ARAÚJO, M. C. P. de; ALVES, R. E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B. A.; NOVOTNY, J. A. Anthocyanins presente in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 9389-9394, 2007.

CADAHIA, E., SIMÓN, B. F., SANZ, M., POVEDA, P., e COLIO, J. Chemical and chromatic characteristics of Tempranillo, Cabernet Sauvignon and Merlot wines from DO Navarra aged in Spanish and French oak barrels. **Food Chemistry**, 115, 639–649, (2009).

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

CERQUEIRA, M. D. **Estudo fitoquímico de *Myrcia rotundifolia* (Berg.) Legrand. (Myrtaceae)**. Dissertação de mestrado Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, 2002.

CÉSPEDA, C. L.; EL-HAFIDI, M.; PAVON, N.; ALARCON, J. Antioxidant and cardioprotective activities aff phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. **Food Chemistry**. v.107, p. 820-829, 2008.

CHANDRA, A.; RANA, J.; LI, Y. Separation, identification, quantification and method validation of anthocyanins in botanical supplement raw materials by HPLC and HPLCMS. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.49, n.8, p.3515-3521, 2001.

CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESALU, V. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolana* seeds. **J. Ethnopharmacol.**, v. 91, p. 105 – 108, 2004.

ChemSpider, acesso em 15/02/2017. < <http://www.chemspider.com/>>

CORAZZA, S. R. Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros. SENAC: São Paulo, 2002.

COSTA, A. F. Farmacognosia. 4. ed. Lisboa: Fund. Calouste Gulbenkian, v. II, 1994. p. 1038 – 1042, 1057 – 1063.

CRUZ, A. P.G.; FREITAS, S. P.; TORRES, A. G.; GOMES, F. S.; CABRAL, L. M. C. Extração de compostos bioativos do bagaço da uva (*vitis vinífera* L.) disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/873891/extracao-de-compostos-ioativos-do-bagaco-da-uva-vitis-vinifera-l> Acesso em 20 de janeiro de 2017.

DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, p. 1-8, 2011.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L. e FENNEMA, O.R. Química de alimentos de Fennema. 4ª ed. Porto Alegre, RS, Artmed, 900p., (2010).

DÄR, A. Tecnologia farmacêutica. Zaragoza: Acribia. p. 141 – 142, 144 – 152, 366; 1981.

DESBOIS, A. P.; SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 85, n. 6, p. 1629–1642, 3 fev. 2010.

DUKE, J. A.; BECKSTROM-STERBERG, S. M. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Database. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=ordQCHqPy9gC&pg=PA146&dq=http://www.arsgrin.gov/cgi-bin/duke/chemactivities.pl&hl=ptBR&sa=X&ved=0ahUKEwiZ5Mr33JPSAhUJgZAKHZlyCKoQ6AEIMjAD#v=onepage&q=http%3A%2F%2Fwww.arsgrin.gov%2Fcgibin%2Fduke%2Fchemactivities.pl&f=false> Acesso em: 13 fev. 2017.

EZHILARASI, P. N.; INDRANI, D; JENA, B. S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Freeze frying technique for



microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, 2013.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions, **Food Chemistry**. 2011.

FARIA-MACHADO, A. F. Identificação e determinação da atividade antioxidante de carotenoides e antocianinas de frutas, **Dissertação (Mestrado)**, Campinas, SP: [s.n.], 2010.

FAVARO, M. M. A. Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação como corantes. **Dissertação (Mestrado)**, Campinas, 2008.

FELLOWS, P. J. Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática. 2ª edição. Porto Alegre: **Artmed**, p.602, 2006.

FENNEMA, O. R. Química de los alimentos. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FLOEGEL, A.; KIM, D.; CHUNG, S.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 1043–1048, 2011.

FLÓREZ, N.; CONDE, E.; DOMÍNGUEZ, H. Microwave assisted water extraction of plant compounds. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 90, n. 4, p. 590–607, abr. 2015.

FRANCIS, F.J. Análisis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed). AnThocyanins of food colors. New York: Academic Press, 1982.p.181-207.

FRANK, K.; KÖHLER, K. e SCHUCHMANN, H. P. Stability of anthocyanins in high pressure homogenization, **Food Chemistry**, p. 716–719, 2012.

FREITAS, L. S. Desenvolvimento de Procedimentos de Extração do Óleo de Semente de Uva e Caracterização Química dos Compostos Extraídos.

**Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, 2007.**

FUJITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, B.; GENOVESE, M. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). **Food Research International**, v. 54, p. 495-500, 2013.

GOIFFON, J. P.; BRUN, M.; BOURRIER, M. J. High performance liquid chromatography of red fruits anthocyanins. **Journal Chromatography**, v. 537, p.101- 121, 1991.

GOIFFON, J. P.; MOULY, P. P.; GAYDOU, E. M. Anthocyanin pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 382, p.39-50, 1999.

GOMES, C.; MOREIRA, R. G.; CASTELL-PEREZ, E. Poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) Nanoparticles with Entrapped trans-Cinnamaldehyde and Eugenol for Antimicrobial Delivery Applications. **Journal of Food Science**, v. 76 (2), p. 16 - 24, 2011.

GOMIDE, R. Operações com sistemas sólidos granulares, in: R. Gomide (Ed.), Operações Unitárias, vol. 1, Edição do autor, São Paulo, 1980.

GROVER, J. K.; VATS, V.; RATHI, S. S.; DAWAR, R. Traditional Indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.*, v. 76, p. 233 - 238, 2001.

GROVER, J.K.; VATS, V. e RATHI, S.S. (2000). Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 461-470.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, v. 35, p. 1147-1150, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radical Biology and Medicine. 3 ed. New York: Oxford University Press, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 1-85, 1990.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Waldomiro Pregnotatto e Neus Sadocco Pascuet - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985 p. 1020.

JACKMAN, R. L.; YADA, R. I.; TUNG, M. A. A review: Separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. *Journal Food Biochemistry*, v. 11, p.279-308, 1987.

JAIN, M. C.; SESHADRI, T. R. Anthocyanins of *Eugenia jambolana* fruits, Indian. *Journal of Chemistry*, v. 13, n. 1, p.20-23, 1975.

JING, P.; GIUSTI, M. M.; “Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract”, *Journal of Food Science*, 2007.

JOANA GIL-CHÁVEZ, G. et al. Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 12, n. 1, p. 5–23, 2013.

KAKABADSE, G.; *Solvent Problems in Industry*, Elsevier: London, 1984.

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, p. 614-20, 2006.

KAPASAKALIDIS, P.G.; RASTALL, R.A; Gordon, M.H. Extraction of polyphenols from processed black currant (*Ribes nigrum* L.) residues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4016-4021, 2006.

KAY, C. D., KROON, P. A., & CASSIDY, A. The bioactivity of dietary anthocyanins is likely to be mediated by their degradation products. *Molecular Nutrition & Food Research*. n. 92, p. 101, 2009.

KING, J. F.; RATHORE, R.; LAM, J. Y. L.; GUO, Z. R.; KLASSEN, D. F.; *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 3028.

LAZCANO, C. A.; YOO, K. S.; PIKE, L. M. A method for measuring anthocyanins after removing carotenes in purple colored carrots. **Scientia Horticulture**, v.90, p.321-324, 2001.

LEE, H. S.; HONG, V. Chromatografic analysis of anthocyanins. *Chromatography*, v.624, p.221-234, 1992.

LI, L., ADAMS, L. S., CHEN, S., KILLIAN, C., AHMED, A., e SEERAM, N. P. Eugenia jambolana Lam. berry extract inhibits growth and induces apoptosis of human breast cancer but not non-tumorigenic breast cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57(3), 826 e 831, (2009).

LUBINEAU, A.; AUGÉ, J.; QUENEAU, Y.; *Synthesis*, 741, 1994.

LUZ, L. P. Estudo do ultrassom como técnica de extração de carvões e caracterização dos hidrocarbonetos poliaromáticos, **Dissertação de Mestrado. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 1998.

MAHMOUD, I. I.; MARZOUK, M. S. A.; MAHARRAM, F. A.; EL-GINDI, M. R.; HASSAN, A. M. K. Acylated flavonol glycosides from Eugenia jambolana leaves. *Phytochemistry*, v. 58, p. 1239 - 1244, 2001.

MAIA, J. D. Avaliação de extratos bioativos de mangaba (hancornia speciosa) utilizando processos a baixas e altas pressões / **Dissertação de mestrado apresentado ao programa de pós graduação da Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, SC, 2016.

MARTÍNEZ-FLÓREZ S, GONZÁLEZ-GALLEGO J, CULEBRAS JM & TUÑÓN MAJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria** 17,271-278, (2002).

MATAIX, E.; CASTRO, M. D. Determination of anthocyanins in wine based on flowinjection, liquid-solid extraction, continuous evaporation and high-performance liquid chromatography-photometric detection. **Journal Chromatography**, v.910, p.225-263, 2001.

MAZZUTTI, S. Extração de compostos de importância biológica provenientes de *Plantago lanceolata* através de técnicas ambientalmente seguras / **Tese de doutorado apresentado ao programa de pós graduação da Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2016.

MELECCHI, M. I. S. Caracterização química de extratos de *Hibiscus tiliaceus* L: Estudo comparativo de métodos de extração. Porto Alegre: UFRGS, 2005. **Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2005.

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

METIVIER, R.P.; FRANCIS, F.J.; CLYDESDALE, F.M. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. **Journal of Food Science**, 45, 1099-1100, 1980.

MIGLIATO, K. F. “*Syzygium cumini* (L.) Skeels -jambolão: estudo farmacognóstico, otimização do processo extrativo, determinação da atividade antimicrobiana do extrato e avaliação da atividade antisséptica de um sabonete líquido contendo o referido extrato. ”**Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Araraquara**, págs. 1-179, 2005.

MIGLIATO, K. F. et al. Ação farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) skeels. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 25, n. 2, p. 310-314, 2006. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/68832>> Acesso em 20 de janeiro de 2017.

MIRANDA, M. A. Efeito de flavonóides na fosfoproteína tirosina fosfatase. Mecanismos cinéticos e relações estrutura atividade. 2000. 154f. Dissertação (**Mestrado em Biologia Funcional e Molecular**), Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas-SP.

MORTON, J. Jambolan. IN: - Fruit of warm climates. Miami, 1987, p. 375 – 378. Disponível em: <<https://hort.purdue.edu/newcrop/morton/jambolan.html>> . Acesso em 20 de janeiro de 2017.

MOREIRA, T. B.; ROCHA, E. M. F. F.; AFONSO, M. R. A.; COSTA, J. M. C. da. Comportamento das isotermas de adsorção do pó da polpa de jambolão liofilizado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. V.17, n. 10, p. 1093 – 1098, 2003.

NETO, B.B., SCARMINIO, I.S., BRUNS, R.E. Como Fazer Experimentos: Aplicações na ciência e na Indústria. Bookman Editora, 2010.

NIJVELDT RJ, NOOD EV, HOORN DERV, BOELEN PG, NORREN KV E LEEUWEN PAMV (2001) Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition** 74, 418-425.

OKUMURA, F.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Identificação de pigmentos naturais de espécies vegetais utilizando-se cromatografia em papel. **Química Nova**, v. 25, n.4, p.680-683, 2002.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641-650, 2010.

OLIVEIRA, DANIELA ALVES DE. Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*vitis vinifera*) das variedades merlot e syrah. **Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina**, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos. Florianopolis-SC, 2010.

PACE-ASCIAK, C. R.; ROUNOVA, O.; HAHN, S. E.; DIAMANDIS, E. P.; GOLDBERG, D. M. Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subject. **Clinica Chimica Acta**, v. 246, p. 163-182, 1996.

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, p. 137-50, 2006.

PIÑEIRO, Z.; CANTOS-VILLAR, E.; PALMA, M.; PUERTAS, B. Direct liquid chromatography method for the simultaneous quantification of Hydroxytyrosol and Tyrosol in Red Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 11683-11689, 2011.

PLAZA, M.; TURNER, C. Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 71, p. 39–54, set. 2015.

POIROT, R.; PRAT, L.; GOURDON, C.; DIARD, C.; AUTRET, J. M. Optimization of batch to continuous transposition: solid-liquid extraction from plants in an industrial contactor. **Chemical Engineering and Technology**, v.30, n.1, p.46-51, 2007.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT - Food Science Technology**, v. 40, p. 1-11, 2007.

PRADO, A. G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Quim. Nova**, Vol. 26, No. 5, 738-744, 2003.

PRINCE, S.M.P., KAMALAKKANNAM, N., MENON, V.P. Syzygium cumini seed extracts reduce tissue damage in diabetic rat brain. **Journal of Ethnopharmacology, Lausanne**, v.84, n. 2-3, p.205-209, 2003.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. Tecnologia farmacêutica. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. I, 1996. p. 1113 – 1115, 1127.

RAPISARDA, P., TOMAINO, A.; LO CASCIO R.; BONINA, F.; DE PASQUALE, A.; SAIJA, A. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 4718-4723, 1999.

REVILLA, E., & RYAN, J. M. (2000). Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by highperformance liquid chromatography-photodiode array detection without sample preparation. **Journal of Chromatography A**, 881, 461–469.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. Química de alimentos. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2004.

RODRÍGUEZ-MEIZOSO, I. et al. Subcritical water extraction and characterization of bioactive compounds from *Haematococcus pluvialis* microalga. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, p. 456 – 463, 2010.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine hainbreaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

ROSS, I. A. Medicinal plants of the world: Chemical constituents, traditional and modern uses. Totowa: Human, 1999. p. 283 - 289.

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

RUFINO, M. S. M. Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais. **Tese (doutorado), UFERSA, Mossoró**, 2008.

SANCHES, A. C. C. Estudo farmacognóstico das cascas de *Styphnodendron obovatum* Benth, atividade antioxidante, antimicrobiana e da ação cicatrizante dos seus extratos. **Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara**, 2004.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. **Food Research International**, v. 32, p. 407-412, 1999.

SANTOS, W. O. Extração de compostos bioativos da polpa de jambolão (*Syzygium cumini* Lamark) com CO<sub>2</sub> supercrítico. **Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará**, Instituto de Tecnologia, BELÉM, 2015.

SARI, Puspita; WIJAYA, Christofora Hanny; SAJUTHI, Dondin; SUPRATMAN, Unang. Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in



a beverage model system: Naturaland copigmented anthocyanins. **Food Chemistry**, 2012.

SARTOR, Saionara. Caracterização de vinhos elaborados com variedades de uvas viníferas cultivadas em diferentes regiões do estado de Santa Catarina, Brasil / **Dissertação de mestrado apresentado ao programa de pós graduação da Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, SC, 2014.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. E. Fitoterapia racional: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde. Barueri: Manole, 2002, p. 05 - 08.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic, 1995, 331 p.

SILVA, D. C. M. N. Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* Less). Florianópolis: UFSC, 2004. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina**, 2004.

SILVA, P. H. Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)/ **Tese de doutorado apresentado ao programa de pós graduação em ciência e tecnologia de alimentos, da Universidade Federal de Viçosa, MG**, 2011.

SILVA, F. M.; LACERDA, P. S. B.; JUNIOR, J. J. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Quim. Nova**, Vol. 28, No. 1, 103-110 Rio de Janeiro – RJ, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: Ed. UFSC, p. 232 - 235, 263 - 288, 289 - 319; 2003.

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. Porto Alegre: UFSC/UFRGS, 2007. 1104 p.

SOARES, L. A. L.; GONZÁLEZ, O. G.; PETROVICK, P. R.; BASANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico de soluções extrativas aquosas de *Phyllanthus niruri* L. (quebra-pedra) empregando planejamento fatorial. *Cad. Farm.* v. 14, n. ½, p. 21-26, 1998.

STARMANS, D. A. J.; NIJHUIS, H. H. Extraction of secondary metabolites from plant material: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 7, n. 6, p. 191-197, 1996.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 4, p. 263-269, 2012.

TACO. (2011). Tabela de composição de alimentos. NEPA - Núcleo de estudos e pesquisas em alimentos/ UNICAMP. 4ª ed. Revisada e ampliada. Ed. Fodepal, Campinas.

TEÓFILO, R.F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. *Quim. Nova*, Vol. 29, No. 2, 338-350, 2006

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n.4, p.684-688, 2002.

TOMAS-BARBERAN, F.; ESPIN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruits and vegetables. **J. Sci. Food and Agric.**, v. 81, p. 853-876, 2001.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidante capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v.111, p. 816-823, 2008.

VIKRANT, V.; GROVER, J.K.; TANDON, N.; RATHI, S.S. e GUPTA N. Treatment with extracts of *Momordica charantia* and *Eugenia jambolana* prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, p. 139-143, (2001).

VITRAC, X.; BORNET, A.; VANDERLINDE, R.; VALLS, J.; RICHARD, T.; DELAUNAY, J. C.; MERILLON, J-M.; TEISSEDE, P. L. Determination of stilbenes (*delta*-viniferin, *trans*-astringin, *trans*-

piceid, *cis*- and *trans*-resveratrol, *epsilon*-viniferin) in Brazilian wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5664-5669, 2005.

VIZZOTO, M.; FETTER, M.R. (2009). Jambolão: o poderoso antioxidante. Embrapa. Disponível em: <http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/produo-caracterizao-e-avaliacao-sensorial-de-fermentado-de-syzygium-cuminil-brinco-de-viva-16997> Acessado em: 20 de janeiro de 2017.

VOIGT, R.; BORNSCHEIN, M. Tratado de tecnologia farmacêutica. Zaragoza: Acribia, p. 496 – 513, 769, 1982.

WANG, L. S., & STONER, G. D. Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*. p. 281–290, 2008.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4038-4089, 2002.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 255-260, 2004.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W. S. M.; FÁVERO, M. L. D.; JUNIOR, C. C.; STREMEL, D. P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira Farmacognóstica**, v. 14, n. 29-39, 2004.

ZHENG, C. J. et al. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS letters*, v. 579, n. 23, p. 5157–5162, 2005.

ZHOU, Q. et al. Identification and Quantification of Phytochemical Composition and Anti-inflammatory, Cellular Antioxidant, and Radical Scavenging Activities of 12 Plantago Species. **J. Agric. Food Chem.**, 2013.



## **8. APÊNDICES**

**APÊNDICE I: CURVAS DE CALIBRAÇÃO**

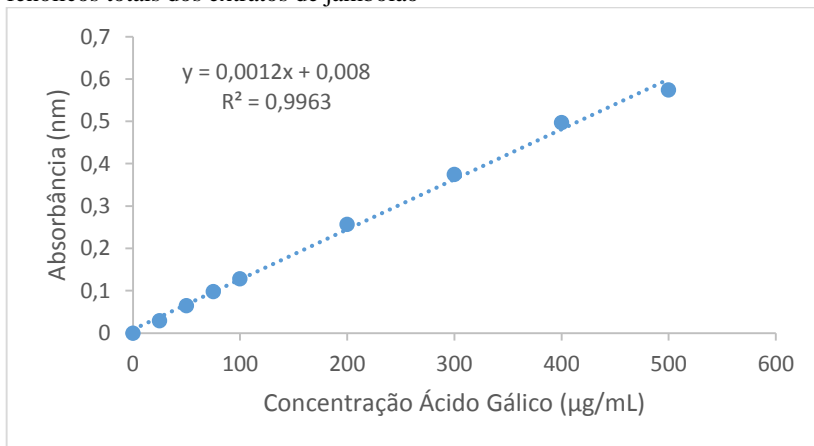
**APÊNDICE II: CROMATOGRAMAS DA CG-EM**

**APÊNDICE III: CROMATOGRAMAS DA CLAE- DAD**

## APENDICE A – CURVAS DE CALIBRAÇÃO

### CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO

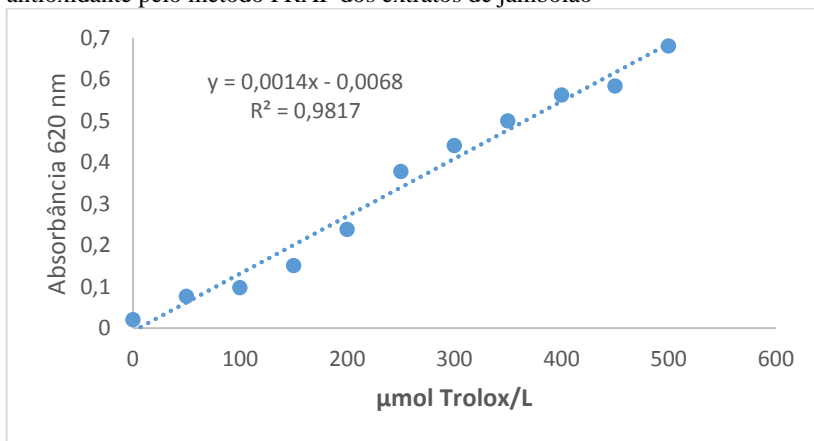
Figura 20 - Curva padrão de ácido gálico utilizada no cálculo de compostos fenólicos totais dos extratos de jambolão



Fonte: Autor (2016).

### CURVA PADRÃO TROLOX DE FRAP

Figura 21 - Curva padrão de trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método FRAP dos extratos de jambolão



Fonte: Autor (2016).

## APÊNDICE B – CROMATOGRAMAS DA CG-EM

Figura 22 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 3: 3g/50°C/0 ciclo – passagem única)

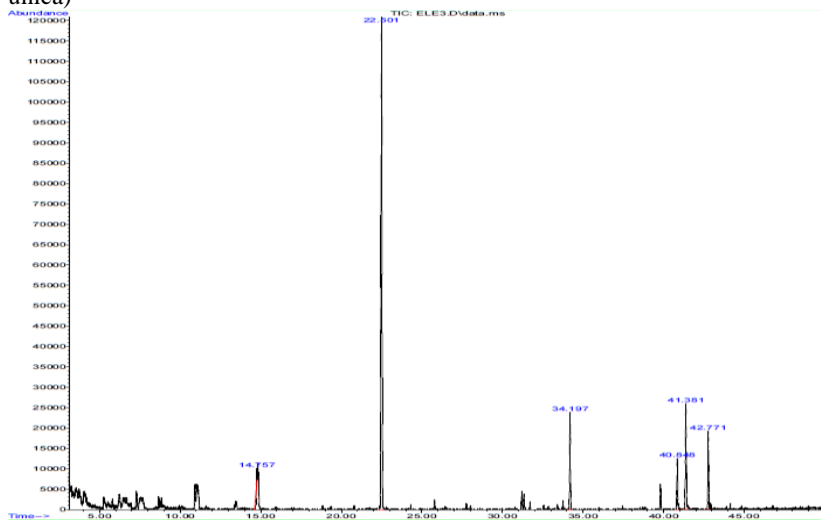


Figura 23 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 7: 3g/50°C/5h)

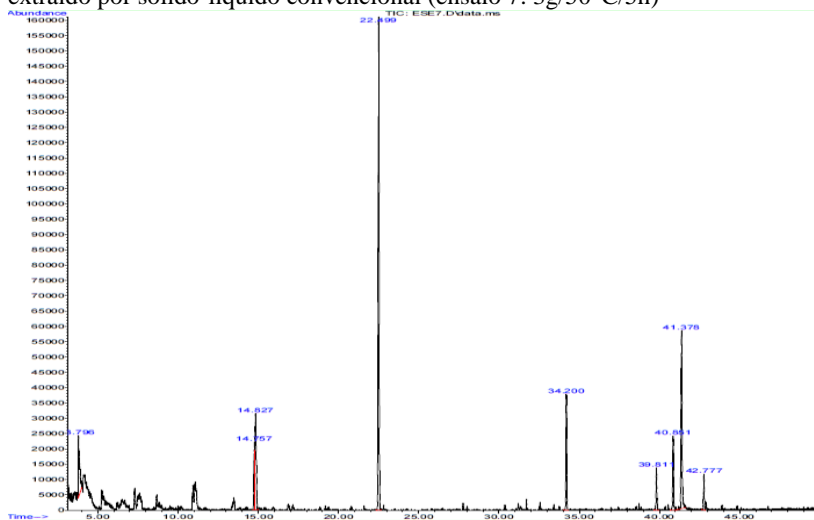


Figura 24 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido assistida por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h)

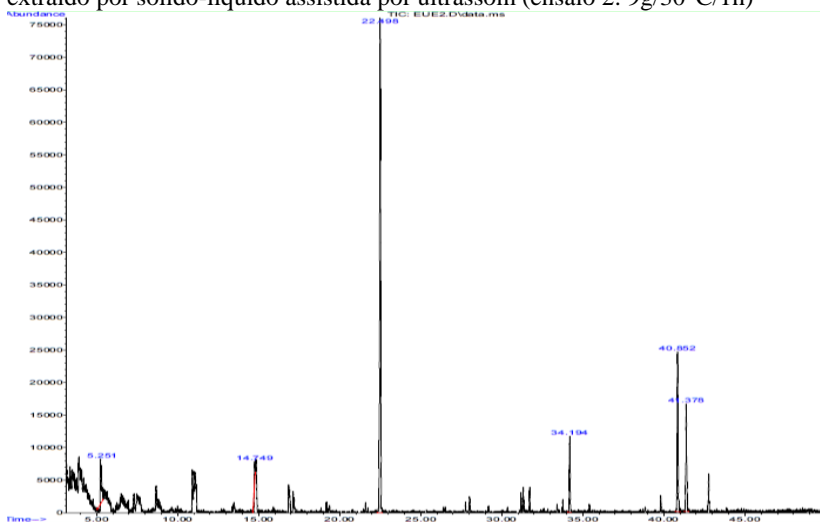


Figura 25 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 2: 9g/30°C/0 ciclo – passagem única)

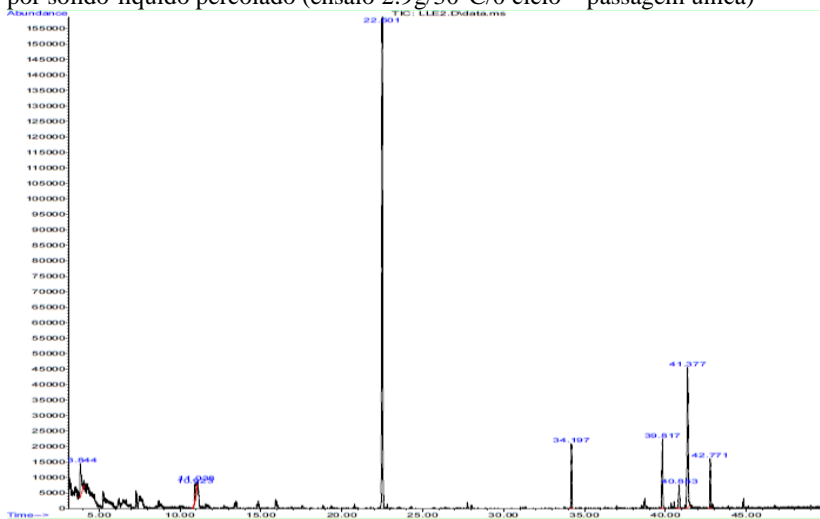




Figura 26 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 6: 9g/30°C/5h)

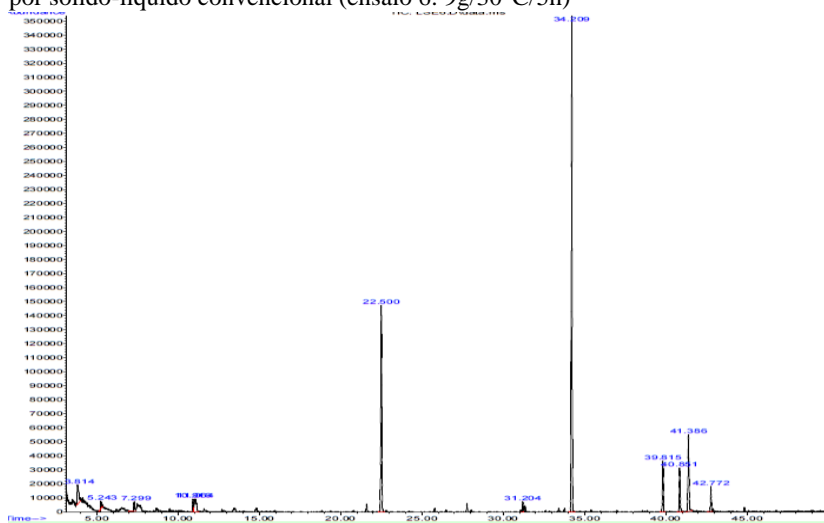
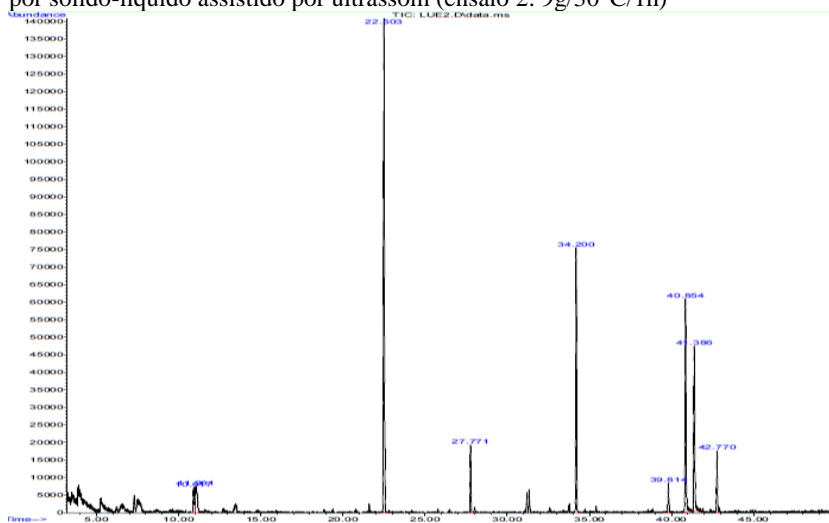


Figura 27 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido assistido por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h)



**APÊNDICE C – CROMATOGRAMAS DA CLAE-DAD****ANTOCIANINAS**

Figura 28 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 3: 3g/50°C/ 0 ciclo – passagem única)

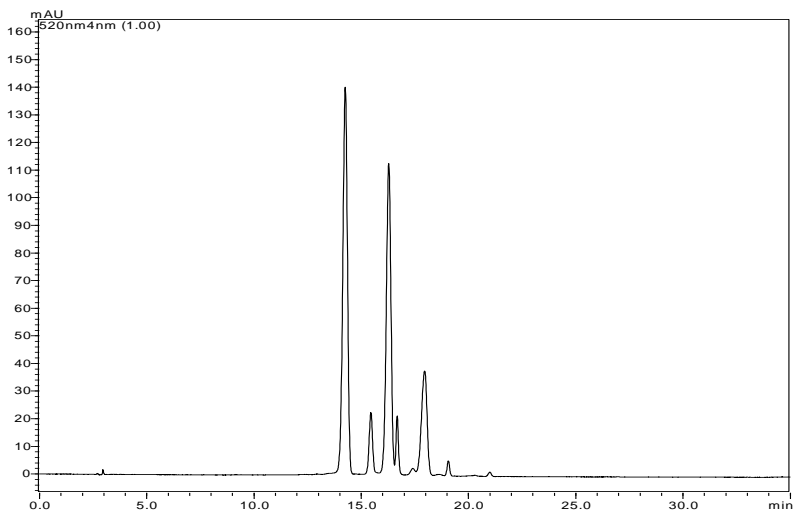


Figura 29 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 7: 3g/50°C/5h)

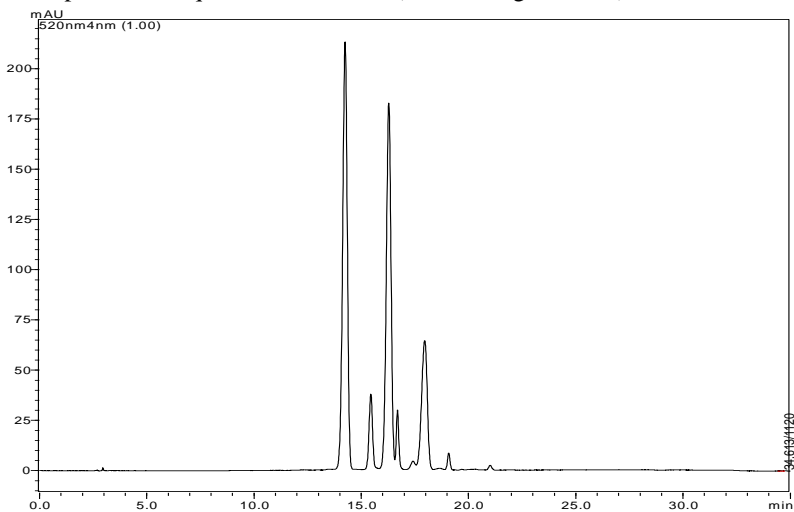


Figura 30 - Cromatograma do extrato de jambolão da amostra seca em estufa extraído por sólido-líquido assistida por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h)

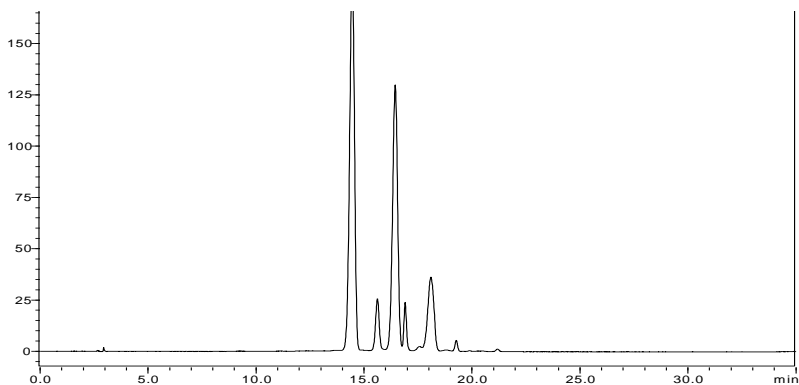


Figura 31 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido percolado (ensaio 2:9g/30°C/0 ciclo – passagem única)

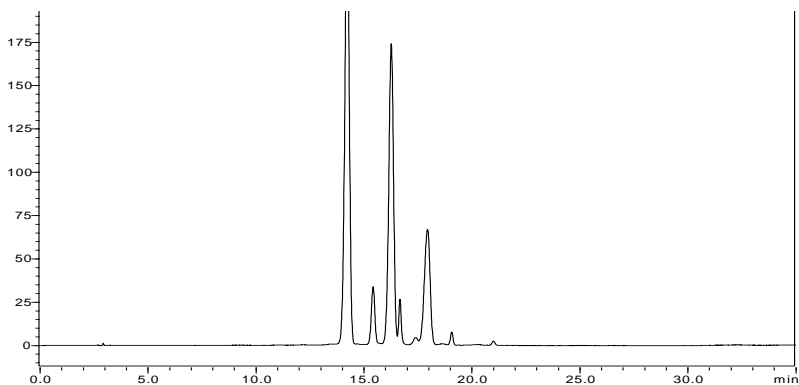


Figura 32 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido convencional (ensaio 6: 9g/30°C/5h)

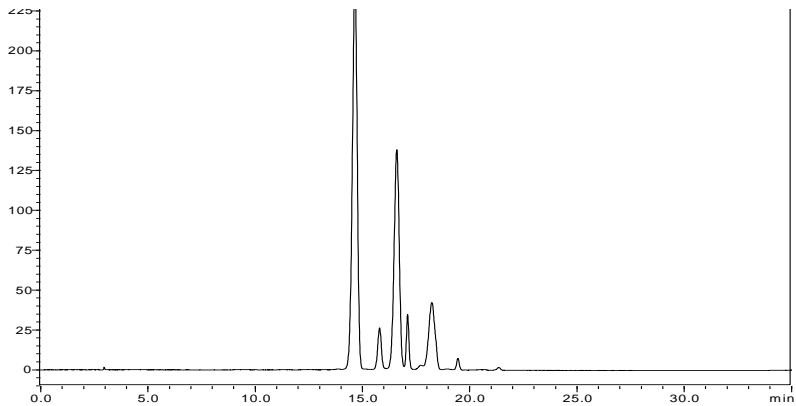


Figura 33 – Cromatograma do extrato de jambolão da amostra liofilizada extraído por sólido-líquido assistida por ultrassom (ensaio 2: 9g/30°C/1h)

