

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA
CAMPUS CHAPECÓ

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO DO
PROCESSAMENTO DO FRUTO GOIABA SERRANA (*Acca sellowiana*)**

ACADÊMICA: JAÍNE FLACH FÜHR

ORIENTADOR Prof. Dr. João Paulo Bender

Maio, 2021

JAÍNE FLACH FÜHR

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO DO
PROCESSAMENTO DO FRUTO GOIABA SERRANA (*Acca
sellowiana*)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: **Prof. Dr. João Paulo Bender**


Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e
aprovado pela banca em: 21/05/2021

BANCA EXAMINADORA

João Paulo Bender Assinado de forma digital por João Paulo Bender
Dados: 2021.05.21 15:47:07 -03'00'

Prof. Dr. João Paulo Bender – UFFS


Prof. Dr. Guilherme Martinez Mibielli - UFFS


Me. Larissa de Bona Gambin

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DO FRUTO GOIABA SERRANA (*Acca sellowiana*)

Jaíne Flach Führ¹; João Paulo Bender²

RESUMO

A biorrefinaria vem impulsionando as iniciativas sustentáveis para a utilização de resíduos do processamento de frutas em diversas aplicações, dentre elas a obtenção de compostos bioativos. Os quais tem o interesse voltado nas suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena. Nativa do planalto meridional brasileiro e nordeste do Uruguai, a goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*) é uma frutífera da família *Myrtaceae* com grande potencial econômico e considerada rica em compostos bioativos. Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar a composição fenólica e a atividade antioxidante dos resíduos do processamento de uma variedade da goiabeira serrana, por meio de um planejamento experimental a fim de analisar as condições de extração por ultrassom. Os frutos foram processados em polpa e posteriormente secos em estufa com circulação de ar a 50 °C. Então triturados com auxílio de gral e pistilo e peneirados em 40 *mesh*. O pó obtido seguiu para processo de extração por ultrassom indireto com a utilização de solvente etanólico na razão sólido/líquido de 40 mg.mL⁻¹. Inicialmente, se avaliou o tempo de extração e após, com o auxílio da técnica de planejamento de experimentos as variáveis temperatura (°C) e concentração de etanol (% m/m). Os extratos obtidos foram avaliados quanto aos compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante total (AAT), pelos métodos de *Folin-Ciocalteau* e DPPH, respectivamente. Por meio da cinética de extração foi definido o tempo de 50 min de permanência no banho de ultrassom para a extração. Os extratos obtiveram grandes conversões alcançando teores de CFT entre 54,48 a 88,58 mg AGE/g amostra seca e AAT entre 337,06 a 426,58 µmol TE/g amostra seca. Para ambas as respostas a concentração de etanol e a temperatura apresentaram diferença significativa (p>0,05). Resultados se demonstraram positivos na utilização de resíduos para extração de compostos bioativos.

Palavras-chave: biorrefinaria, ultrassom, etanol, compostos bioativos, atividade antioxidante.

ABSTRACT

Biorefinery has been boosting sustainable initiatives for the use of waste from the processing of fruits in several applications, one of them being the obtainment of bioactive compounds. The interest on these compounds focuses on their antioxidant, anti-inflammatory and anti-carcinogenic properties. The feijoa (*Acca sellowiana*), a tree native to the Brazilian Southern Plateau and northeast of Uruguay, is a fruit tree from the *Myrtaceae* family with great economic potential and is considered to be rich in bioactive compounds. Considering that, the objective of this study was to examine the phenolic composition and the antioxidant capacity of the waste from a sample of goiabeira-serrana by an experimental plan seeking to analyze the extraction conditions through ultrasound. The fruits were processed into pulp and later dried out in a heating chamber with the air circulation at 50°C. They were then grinded with the help of a mortar and pestle and sifted through a 40 mesh. The obtained powder went through an extraction process by indirect ultrasound with the use of an ethanolic solvent with a solid/liquid

¹ Discente do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul UFFS, campus Chapecó – SC.

² Docente do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul UFFS, campus Chapecó – SC.

ratio of 40 mg.mL⁻¹. The time of extraction was observed alongside the variables in temperature (°C) and ethanol concentration (% m/m) with the aid of the experimental planning technique. The obtained extracts were analyzed with respect to total phenolic content (TPC) and the total antioxidant capacity (TAC) through the Folin-Ciocalteu and DPPH methods, respectively. The time of extraction was found through kinetics and was observed to be of 50 minutes of permanence in the ultrasound bath. The extracts had great conversion numbers, reaching concentrations of CFT between 54,48 to 88,58 mg GA/g for the dry sample and concentrations of TAC between 337,06 a 426,58 µmol TE/g for the dry sample. For both TPC and TAC, the ethanol concentration and temperature showed a significant difference (p>0,05). The results show to be positive in the utilization of waste for the extraction of bioactive compounds.

Keywords: biorefinery, ultrasound, ethanol, bioactive compounds, antioxidant capacity.

1. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de frutas foi estimada em 43 milhões de toneladas em 2019, a qual deixa o país na terceira colocação no ranking mundial, ficando atrás somente da China e Índia, respectivamente (CARVALHO et al., 2019). O plantio das espécies em todo território nacional, ultrapassa uma área de 2 milhões de hectares o que fornece uma ampla diversidade para os consumidores (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2018). No Brasil, de acordo com o Instituto Brasileiro de Frutas – IBRAF (2013) 53% da produção de frutas é comercializada em sua forma fresca e 47% destinada ao setor agroindustrial para produção industrializada de sucos, chás, polpas congeladas, geleias, sorvetes e entre outros. Devido à alta produção, a cadeia produtiva de frutas também é grande geradora de resíduos, onde são observadas perdas em todas as etapas, desde a colheita, transporte, industrialização e comercialização (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2018).

Diante disso, os conceitos de biorrefinaria – mitigação dos desperdícios – surgem como alternativas sustentáveis e lucrativas para utilização de subprodutos. Como produto principal das diversas aplicações, temos a minimização dos impactos ambientais associados, bem como a valoração dos resíduos (CARMONA-CABELLO et al., 2018). O processamento de frutas é uma estratégia para valorar o setor, uma vez que existem várias condicionantes que dificultam a conservação e o armazenamento dos frutos *in natura*. Entretanto, esse tratamento contribui para a geração de resíduos, no qual segundo Cheok et al (2018), cerca de 52% dos frutos são descartados como subprodutos, sendo que 42% correspondem à casca e 10% às sementes. Ainda, é importante observar que, os resíduos do processamento se mantem com importantes propriedades das frutas frescas, como uma diversidade de vitaminas, compostos bioativos e antioxidantes (ESPARZA et al., 2020). Neste contexto, as parcelas descartadas podem ser

valorizadas com o objetivo de aprimorar os benefícios econômicos, bem como contribuir com a expansão da fruticultura (VILLACÍS-CHIRIBOGA et al., 2020; CAMPOS et al., 2020).

Em vista disso, surge o interesse em explorar as possibilidades tecnológicas com os resíduos de diversas espécies frutíferas. Neste cenário, se destaca a goiaba-serrana (*Acca sellowiana*), popularmente conhecida como goiabeira-do-mato, goiabeira-do-campo ou goiabeira-ananás. É uma frutífera da família *Myrtaceae* com grande potencial econômico devido as características peculiares de seus frutos, que podem ser consumidos *in natura* ou processados (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2011). Diversas características fazem a goiaba serrana ser atrativa aos olhos dos pesquisadores, dentre elas a atividade antioxidante. A qual foi encontrada na casca (TUNCEL; YILMAZ, 2015; DO AMARANTE et al., 2017) e nos frutos (KELES et al., 2012; PASQUARIELLO et al., 2015). A goiabeira-serrana, apesar de ser nativa do Brasil, ainda é pouco popularizada no país, produzida principalmente por agricultores familiares de Santa Catarina ocupando uma área de aproximadamente 12 hectares e uma produtividade registrada de 15 a 20 toneladas/há (EPAGRI, 2020). Já na Nova Zelândia a colheita da goiaba serrana representou um volume de 1.200 toneladas de frutos em 2019 (AITKEN; HEWETT, 2019).

Nas plantas, além dos macros e micronutrientes, responsáveis pelo metabolismo primário, alguns vegetais também oferecem compostos químicos que exercem uma alta atividade biológica, estes que são denominados de compostos bioativos (DURMIC; BLACHE, 2012). Estes compostos possuem como função fisiológica a ação contra radicais livres. Neste sentido eles atuam na defesa do organismo contra o estresse oxidativo, por meio de suas atividades antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral (BORGES et al., 2013). Agem de tal forma que é possível prevenir e até mesmo evitar uma série de patologias (YAHIA; GUTIÉRREZ-OROZCO; LEON, 2011). Dentre os compostos fenólicos encontrados na goiaba serrana destaca-se o ácido gálico, ácido elágico, ácido siríngico, catequina, quercetina, elagitaninos, flavonas, entre outros. (ZHU, 2018).

Os compostos bioativos, em sua maioria, se encontram aderidos as células vegetais e precisam ser liberados com o uso de metodologias específicas dentre elas a maceração, extração por soxhlet, extração por clevenge, extração por destilação a vapor, e mais recentemente extração por microondas, extração por fluido supercrítico e extração assistida por ultrassom (CHEMAT et al., 2017). Especialmente, o interesse pelo ultrassom se dá visto aos seus impactos verdes no processo de extração de compostos bioativos, como maior rendimento do produto, menor tempo de processamento e custos de manutenção (WEN et al., 2018). Esta tecnologia utiliza energia das ondas ultrassônicas com o intuito de aumentar as taxas de transferência de

massa e possibilitar a ruptura da parede celular devido à cavitação. O fenômeno permite a formação de microcavidades, diminuindo o consumo de solventes e elevando o rendimento com o tempo (WEN et al., 2018). Por fim, os extratos obtidos e quantificados são aplicados frente a um objetivo que pode ser para favorecer a indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e demais alternativas tecnológicas (KUMAR et al., 2020).

Haja vista a geração de resíduos indústria de processamento de frutas e o potencial de valorização dos mesmos, este estudo pretende avaliar a composição fenólica e a atividade antioxidante dos resíduos do processamento de uma variedade da goiabeira serrana. Por meio de um planejamento experimental a fim de analisar as condições de extração por ultrassom.

2. METODOLOGIA

2.1. MATERIAIS

2.1.1. Matéria-prima

Os frutos da goiabeira-serrana foram gentilmente cedidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, estação experimental de São Joaquim – SC. A colheita foi realizada em meados de abril de 2018. Neste mesmo período, os frutos foram transportados para o laboratório da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – Campus Chapecó. Onde permaneceram armazenados e refrigerados no freezer (-18 °C) até o momento da utilização. Para essa pesquisa foi selecionada as frutas da variedade Nonate.

Em seguida os frutos passaram por processo de higienização em água corrente e em solução de hipoclorito de sódio (NaCl) a 200 ppm. Posteriormente, picados em fatias longitudinais de aproximadamente 2 cm de espessura, mantendo a casca e a sementes. Para obtenção da polpa, as fatias seguiram para processamento em liquidificador marca Philips Walita potência de 1000W por 30 segundos. A polpa obtida foi disposta em bandejas plásticas e encaminhadas à estufa de secagem com circulação e renovação forçada de ar à 50 °C, até atingir massa (g) constante. Simultaneamente se realizou ensaio de determinação de umidade conforme a metodologia 012/IV do Adolfo Lutz (2008). O procedimento é realizado em triplicata e o resultado expresso como média percentual de umidade (%) conforme a Equação 1.

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

Onde: M_i = massa inicial da amostra (g); M_f = massa final da amostra (g).

Por fim, o resíduo seco foi triturado com o auxílio de gral e pistilo com o intuito de reduzir o tamanho das partículas e padronizar as amostras. Depois de triturado, o pó resultante foi peneirado em peneirador eletromagnético com o uso das peneiras de série Tyler, onde para os ensaios foram selecionadas as partículas que passaram na peneira de 40 mesh. O pó da goiaba seguiu para armazenagem em pote de vidro envolto em papel alumínio, e acondicionado no freezer (-18 °C) até o momento da utilização.

2.2. PROCEDIMENTOS

2.2.1. Extração de compostos bioativos

Para a execução dos testes de extração se utilizou o banho de ultrassom (Ultronique, Q5.9/404) acoplado ao banho ultratermostatizado. Foram dispostas em tubo de ensaio com rosca 0,4 g de amostra do resíduo da goiaba e em seguida, adicionado 10 mL da solução de extração, conferindo uma razão sólido/líquido de 40 mg.mL⁻¹, condição com bons resultados no tocante da obtenção de atividade antioxidante segundo Gambin (2020). Posteriormente, os tubos de ensaio foram submetidos ao banho de ultrassom com potência máxima e a temperatura ajustada conforme cada experimento. Transcorrido o tempo de extração, os extratos seguiram para centrifugação em tubos de Falcon (15 mL) por 5 minutos, na temperatura de 5 °C a 4800 rpm. Por fim, o sobrenadante (extrato) ficou armazenado (tubos de Falcon envolto em papel alumínio) em freezer (-18 °C) até o momento da realização das análises e o resíduo desprezado.

2.2.2. Cinética

A fim de definir o tempo ideal para extração se realizou uma cinética de extração de acordo com a Tabela 1 variando o tempo de 0 a 240 min. Os ensaios se decorreram à temperatura de 50 °C, razão sólido líquido de 40 mg.mL⁻¹ e concentração de etanol de 70%. A definição do tempo levará em consideração os resultados obtidos em compostos fenólicos aplicando os testes de Tukey e de HSU (*Multiple Comparisons with the Best-MCB*).

Tabela 1 – Cinética de extração

Ensaio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tempo (min)	0	10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	150	180	210	240

Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

2.2.3. Planejamento experimental

O principal objetivo da aplicação da técnica de planejamento de experimentos será compreender a influência das variáveis temperatura e concentração de etanol e encontrar a melhor condição de extração do processo. Para isso se elaborou um Planejamento Composto Central Rotacional (DCCR) completo. A partir dos resultados obtidos na cinética será fixado um tempo de extração, mantendo a razão sólido líquido em 40 mg.mL^{-1} e as demais variáveis e níveis ficando de acordo com a Tabela 2. Importante salientar que os ensaios serão realizados em triplicata.

Tabela 2 – Variáveis e níveis do planejamento DCCR.

Variáveis	Níveis				
	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Temperatura (°C)	25,9	30	40	50	54,1
Concentração de etanol (%)	21,8	30	50	70	78,2

Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

2.3. MÉTODOS ANALÍTICOS

2.3.1. Teor de compostos fenólicos totais (CFT)

Para o presente trabalho utilizou-se o método espectrofotométrico pelo reagente de Folin-Ciocalteu, conforme a metodologia descrita por Carniel et al (2017). Inicialmente, os extratos foram diluídos em metanol em proporção 1:40 v/v, para então ser utilizada uma alíquota de 0,5 mL. Em seguida adicionou-se aos tubos de ensaio, na sequência: 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%, v/v) e 2 mL de carbonato de sódio (7,5% v/v). Os tubos de ensaio são submetidos a banho-maria a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 minutos, e depois colocados em banho de gelo, igualmente por 5 min. Posteriormente, as amostras tem sua absorbância medidas em espectrofotômetro no comprimento de onda 760 nm. Os resultados serão expressos como miligrama de ácido gálico equivalente por g de amostra seca (mg AGE/g seca) a partir da curva de calibração construída, por meio de diferentes concentrações de ácido gálico (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) da solução estoque de ácido gálico ($1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

2.3.2. Avaliação da atividade antioxidante total por DPPH

Para determinação da atividade antioxidante dos extratos, será aplicada a metodologia de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), adotando o procedimento de Brand-Williams e Berset (1995), Roesler et al. (2007) e Gambin et al (2020). Inicialmente

preparou-se uma solução metanoica de DPPH a 4%. Em seguida, as amostras foram diluídas em metanol na proporção 1:80 v/v e transferidos 600 μ L dessas diluições para tubos de ensaios e 3 mL da solução de DPPH 4 %. Para o branco utilizou-se 600 μ L de metanol e 3 mL da solução de DPPH 4 %. As amostras permaneceram por 30 minutos em ambiente escuro. Decorrido o tempo realizou-se as leituras em espectrofotômetro, com o equipamento zerado com metanol, no comprimento de onda de 517 nm. Por fim, os resultados foram expressos como micro mol Trolox Equivalente por grama de amostra seca (μ mol TE/g seca) e as amostras foram comparadas a curva de calibração de Trolox 1500 μ M por meio de diferentes concentrações (10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 e 225 μ L).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. OBTENÇÃO DA POLPA

O fruto da goiaba serrana foi processando na íntegra, ou seja, contemplando a casca, fruta, polpa e sementes. Essa medida foi adotada uma vez que, na indústria de processamento não existe uma separação no descarte e também para contemplar os compostos bioativos de todas as partes do fruto. À vista disso, os resultados obtidos nas extrações não sejam representativos para os resíduos, mas sim dos frutos processados como um todo. Em seguida, esse material foi secado à 50 °C considerada uma temperatura amena a fim de evitar a exposição prolongada da matéria-prima a temperaturas mais elevadas, o que poderia ocasionar a perda de compostos bioativos.

O teor de umidade determinado para o fruto processado foi de 85,40%, valor que se encontra em conformidade com o trabalho de Zhu (2018), o qual obteve 83,28% de umidade para os frutos da goiabeira serrana. Pequena discrepância se deve ao processamento do fruto, o qual agrega umidade. Após a secagem as amostras foram moídas em gral e pistilo e ainda assim não apresentavam homogeneidade. Diante disso optou-se por padronização dos tamanhos de partículas pelo método do peneiramento, com o uso das peneiras série de *Tylor*. A granulometria desempenha influência aos processos de extração, partículas menores alcançam maiores taxas de transferência de massa (COSTA; BUCEK, 2017). Portanto, foram selecionadas as amostras que passaram em peneira com abertura de 40 mesh, resultando em partículas de tamanhos inferiores a 0,425 mm.

3.2. CINÉTICA DE EXTRAÇÃO

Em um primeiro momento optou-se por realizar uma cinética de extração, haja vista que o tempo é uma variável que exerce influência na obtenção dos extratos (LIMA et al., 2018).

Foram então executados quinze ensaios variando o tempo de 10, 15 e 30 minutos, respectivamente. Todos os ensaios decorreram em banho de ultrassom a temperatura de 50 °C, razão sólido/líquido de 40 mg.mL⁻¹ e com uso de solvente etanólico a 70%. Na Tabela 3 podem ser consultados os resultados obtidos em compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total.

Tabela 3 – Compostos fenólicos totais (CFT) e Atividade antioxidante total (AAT) após a extração em banho de ultrassom¹.

Ensaio	Código	Tempo (min)	CFT ² (mg AGE/ g amostra seca) ²	AAT ³ (µmol TE / g amostra seca) ³
1	A0	0	37,24 ± 2,73 ^b	221,14 ± 2,43 ^b
2	B10	10	57,71 ± 3,15 ^{ab}	264,83 ± 1,65 ^a
3	C20	20	57,97 ± 1,65 ^{ab}	269,25 ± 1,33 ^a
4	D30	30	60,35 ± 2,88 ^a	268,99 ± 2,36 ^a
5	E40	40	72,06 ± 9,17 ^a	280,48 ± 19,91 ^a
6	F50	50	77,14 ± 4,82 ^a	270,51 ± 0,38 ^a
7	G60	60	74,76 ± 3,58 ^a	268,85 ± 0,13 ^a
8	H75	75	70,89 ± 4,34 ^a	270,38 ± 0,22 ^a
9	I90	90	68,19 ± 2,16 ^a	270,89 ± 0,38 ^a
10	J105	105	56,73 ± 5,37 ^{ab}	270,38 ± 0,79 ^a
11	K120	120	63,71 ± 0,88 ^a	270,76 ± 0,58 ^a
12	L150	150	59,46 ± 4,49 ^a	269,88 ± 1,58 ^a
13	M180	180	57,52 ± 2,03 ^{ab}	271,01 ± 0,22 ^a
14	N210	210	56,70 ± 0,91 ^{ab}	269,88 ± 0,58 ^a
15	M240	240	62,41 ± 4,91 ^a	270,13 ± 1,36 ^a

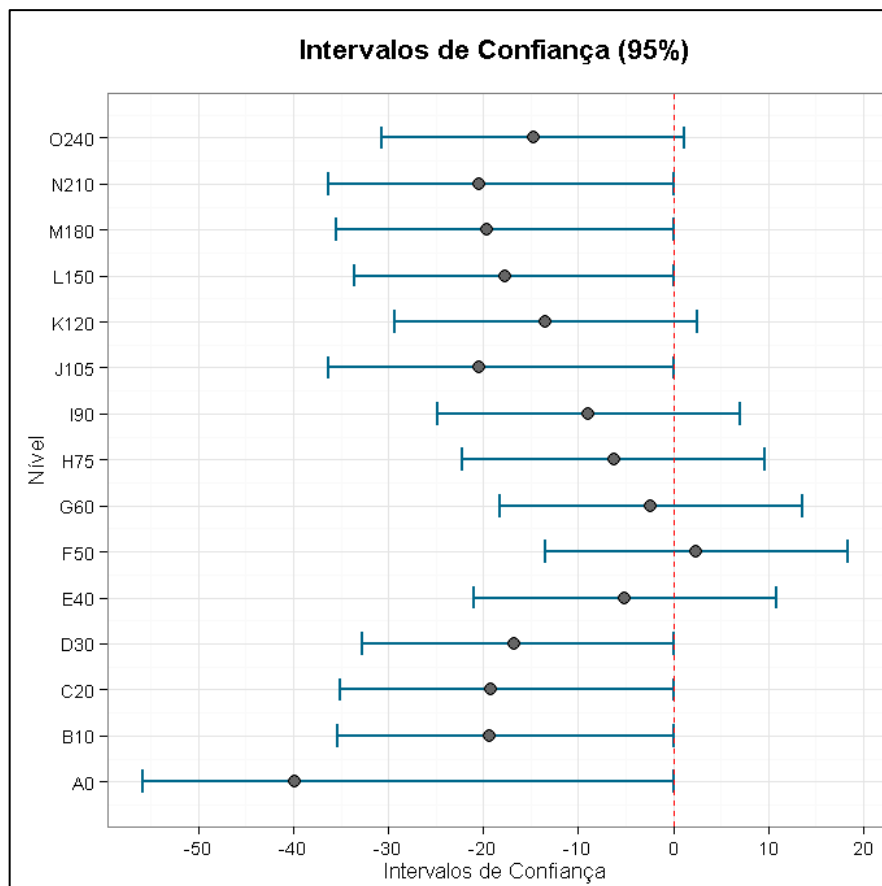
Fonte: elaborado pelos autores (2021).

¹Os resultados são expressos como média das duplicatas ± desvio padrão; ²CFT (mg AGE/ g amostra seca): Compostos fenólicos totais em miligrama de ácido gálico equivalente por grama de amostra seca; ³AAT (µmol TE/g amostra seca): Atividade antioxidante total em micro mol de Trolox equivalente por grama de amostra seca. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, segundo teste de Tukey (p>0,05).

Como podemos observar na Tabela 3, o melhor resultado em compostos fenólicos totais refere-se ao ensaio 6 com 77,14 mg AGE/g amostra seca, já a maior atividade antioxidante foi obtida no ensaio 5 com 280,48 $\mu\text{mol TE/g}$ amostra seca. Entretanto, ao aplicar o teste de *Tukey* com 95% de confiança, não se obteve diferença significativa entre os ensaios para se justificar a definição de uma melhor condição, principalmente ao que se refere a atividade antioxidante total.

Sobre essa dúvida optou-se por avaliar os resultados de compostos fenólicos totais por meio do Teste de HSU (*Multiple Comparisons with the Best-MCB*). O teste proposto por Jason Hsu (1992), de maneira geral, tem o objetivo comparar todos os tratamentos com o melhor. Desta premissa o nome “Múltiplas comparações com o melhor resultado”. O resultado esperado pode ser definido como o maior ou menor. No caso dessa pesquisa se buscou o maior resultado diante todos os ensaios, na Figura 1 se observa o resultado do teste.

Figura 1 – Diferença entre médias e intervalos de confiança para Compostos Fenólicos Totais.



Fonte: elaborado pelos autores (2021).

Diante o exposto na Figura 1 e interpretação do método, conclui-se que o ensaio sob o código F50 é o que apresenta melhor desempenho, uma vez que seu intervalo de confiança está deslocado para direita e com maior parte positiva. Portanto, para dar sequência nesse estudo foi definido que o tempo ideal para extração em banho de ultrassom é de 50 min. Silva et al. (2019) em suas pesquisas com Jatobá (*Hymenaea courbaril L.*) afirma que não se justifica o emprego de metodologias extrativas muito demoradas, no intuito de evitar a degradação térmica dos compostos presentes na amostra.

3.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Após a definição do tempo de extração descrita o item 3.2, realizou-se um planejamento de experimentos a fim de obter o efeito das variáveis de processo sobre as respostas de interesse. Assim sendo, executou-se um planejamento composto central rotacional – DCCR (Tabela 4) com o intuito de avaliar os efeitos e interações entre as variáveis temperatura e concentração de etanol na obtenção de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os níveis das variáveis foram definidos em conformidade ao estudo de Gambin (2020) e de acordo com as limitações dos equipamentos.

Tabela 4 – Matriz Planejamento Experimental Composto Central Rotacional e os resultados em compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante total (AAT)¹.

Ensaio	Temperatura (°C)	Concentração de etanol (%)	CFT ² (mg AGE/ g amostra seca)	AAT ³ (μ mol TE / g amostra seca)
1	30 (-1)	30 (-1)	70,14 ± 1,15	357,64 ± 3,20
2	50 (+1)	30 (-1)	75,19 ± 1,69	390,64 ± 5,12
3	30 (-1)	70 (+1)	54,48 ± 0,15	337,06 ± 0,32
4	50 (+1)	70 (+1)	61,36 ± 1,15	357,86 ± 4,80
5	25,9 (-1,41)	50 (0)	69,33 ± 0,33	352,66 ± 0,64
6	54,1 (+1,41)	50 (0)	88,58 ± 1,30	426,58 ± 0,96
7	40 (0)	21,8 (-1,41)	74,37 ± 1,30	387,47 ± 0,20
8	40 (0)	78,2 (+1,41)	55,18 ± 0,08	360,80 ± 6,39
9	40 (0)	50 (0)	77,57 ± 1,84	384,76 ± 5,43

10	40 (0)	50 (0)	74,97 ± 1,84	404,66 ± 5,43
11	40 (0)	50 (0)	67,81 ± 1,84	396,97 ± 5,43

Fonte: elaborado pelos autores (2021).

¹Os resultados são expressos como média das duplicatas ± desvio padrão; ²CFT (mg AGE/ g amostra seca): Compostos fenólicos totais em miligrama de ácido gálico equivalente por grama de amostra seca; ³AAT (µmol TE/g amostra seca): Atividade antioxidante total em micro mol de Trolox equivalente por grama de amostra seca.

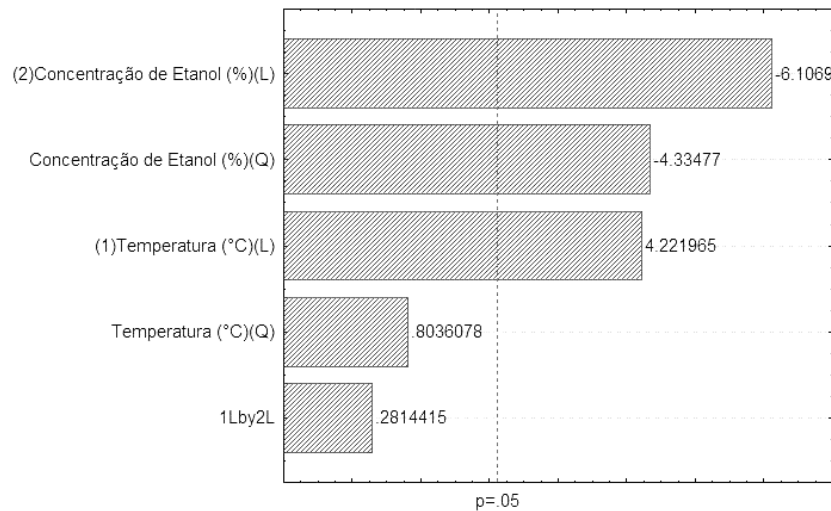
Diante dos resultados expostos na Tabela 4, se nota que para compostos fenólicos totais se obteve valores entre 54,48 a 88,58 miligramas de ácido gálico equivalente por grama de amostra seca. Já para atividade antioxidante total os resultados variam de 337,06 a 426,58 micro mol Trolox equivalente por grama de amostra seca. Sendo o ensaio 6 nas condições de temperatura a 54,1 °C e solvente etanólico na concentração de 50% com as maiores conversões para ambos.

Embora tenha-se utilizado o fruto inteiro para a realização dos ensaios, os altos resultados são vistos de maneira positiva. Segundo Banerjee (2018), os compostos bioativos são encontrados em concentrações significativamente maiores nas frações descartadas do que nas partes comestíveis, demonstrando o potencial dos frutos processados.

3.3.1. Compostos fenólicos totais

Para concentrações de etanol abaixo de 50 % os ensaios obtiveram melhores resultados para compostos fenólicos totais. Fato que é evidenciado pelo gráfico de Pareto (Figura 2) onde é possível observar que a concentração de etanol possui maior efeito sobre a variável respondida, sendo esse negativo.

Figura 2 – Gráfico de Pareto para compostos fenólicos totais com os efeitos padronizados segundo o DCCR.



Fonte: elaborado pelos autores (2021).

(L): efeito linear; (Q): efeito quadrático; (1Lby2L): efeito da interação entre temperatura e concentração de etanol.

A concentração de etanol exerce efeito negativo de forma linear e quadrática, no sentido de que concentrações medianas de etanol contribuem para obtenção dos compostos fenólicos, do que as extremas. Demonstrando-se positiva, a fim de garantir bons resultados por meio de concentrações adequadas e com baixo consumo (TUNCEL; YILMAZ, 2015). Também incluindo os objetivos da extração verde a fim de reduzir o consumo solventes orgânicos, energia, resíduos e poluição ambiental enquanto obtém a adição de rendimentos (CHEMAT et al., 2017).

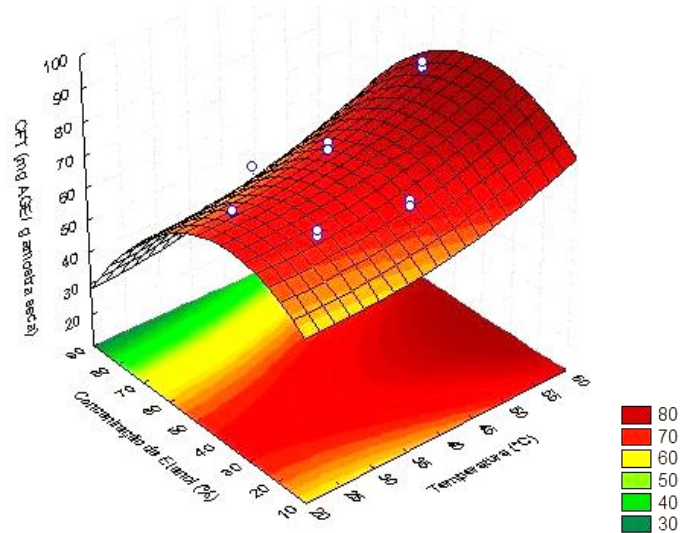
Ainda, se observa que a temperatura exerceu efeito linear e positivo, assim um incremento na temperatura também propicia um incremento na obtenção de compostos fenólicos totais. A interação entre as variáveis temperatura e concentração de etanol não foi significativa.

Os resultados apresentados na Tabela 3 para compostos fenólicos totais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a qual validou um modelo matemático codificado de segunda ordem a 95% de confiança, Equação (2). O coeficiente de correlação obtido foi de $R = 0,8736$ e o $F_{\text{calculado}}$ (16,6) foi maior que F_{tabelado} , possibilitando a obtenção de uma superfície de resposta (Figura 3).

$$\text{CFT} = 56,5503 - 0,5128x + 0,0111x^2 + 1,0487y - 0,0149y^2 + 0,0023xy \quad (2)$$

Onde: CFT = compostos fenólicos totais (mg AGE/ g amostra seca); x = concentração de etanol (%); y = temperatura (°C).

Figura 3 – Superfície de resposta para os compostos fenólicos totais em função da temperatura e concentração de etanol.



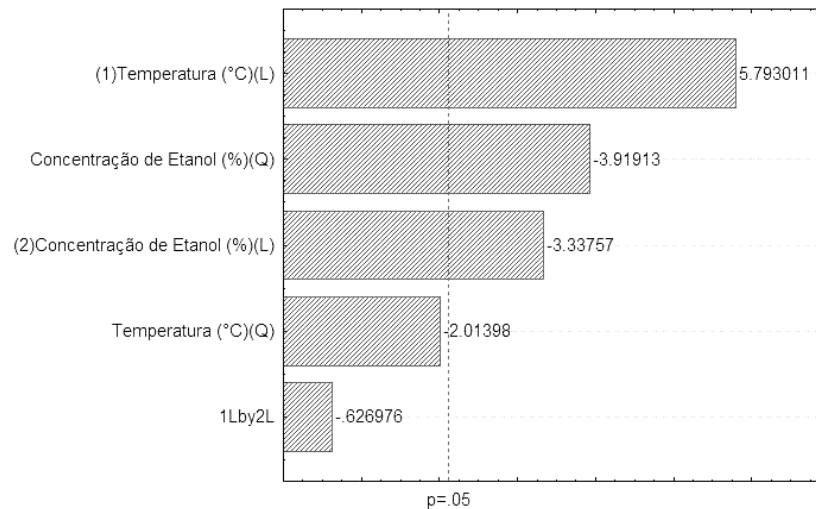
Fonte: elaborado pelos autores (2021).

Pela Figura 3 é comprovada uma região com alta taxa de obtenção de compostos fenólicos totais, a qual é obtida por meio de temperaturas entre 50 e 60 °C e concentração de etanol na região mediana entre 20 e 50 %. Este que pode ser observado pela curvatura na superfície de resposta.

3.3.2. Atividade antioxidante total

Avaliando os resultados obtidos para atividade antioxidante total pelo gráfico de Pareto (Figura 4) é possível observar que tanto a temperatura quanto a concentração de etanol foram significativas ($p < 0,05$) a 95% de confiança.

Figura 4 – Gráfico de Pareto para atividade antioxidante total com os efeitos padronizados de acordo com o DCCR.



Fonte: elaborado pelos autores (2021).

(L): efeito linear; (Q): efeito quadrático; (1Lby2L): efeito da interação entre temperatura e concentração de etanol.

O efeito negativo da concentração de etanol comprova que a utilização de solvente com menores concentrações é benéfica para observação de atividade antioxidante do extrato. Entretanto, é preciso atentar ao fato de que extrações com quantidade de água superior a 60% podem prejudicar a extração, uma vez que o ultrassom induz o aumento dos radicais de dissociação da água (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012).

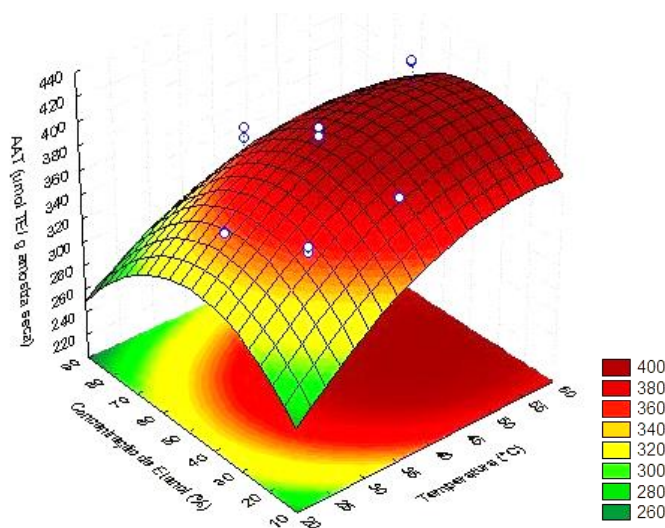
Em relação a temperatura, observa-se que ela exerceu efeito linear e positivo, no sentido de que ao elevar a temperatura obtém-se maiores rendimentos em atividade antioxidante. Embora estudos anteriores não tenham demonstrado efeitos de altas temperaturas (Gambin 2020) na extração de compostos bioativos da goiaba serrana, o aumento no rendimento da atividade antioxidante com temperaturas de extração mais elevadas pode ser explicado por vários efeitos de temperatura no processo de transferência de massa, como difusão aprimorada e desnaturação da matriz da planta. O tratamento ultrassônico combinado com aquecimento pode induzir a formação de microfaturas localizadas nas paredes celulares, as quais contribuem na liberação dos compostos bioativos (ZHU et al., 2016).

Por fim, os resultados apresentados na Tabela 4 foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a qual também validou um modelo matemático codificado de segunda ordem Equação (3). O coeficiente de correlação obtido foi de $R = 0,8424$ e o $F_{\text{calculado}} (12,8)$ foi maior que F_{tabelado} com 95 % de confiança, possibilitando a obtenção de uma superfície de resposta (Figura 5).

$$\text{AAT} = 84,0565 + 9,2827x - 0,0818x^2 + 4,0175y - 0,0398y^2 - 0,0151xy \quad (3)$$

Onde: AAT = atividade antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ amostra seca); x = concentração de etanol (%); y = temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

Figura 5 – Superfície de resposta para atividade antioxidante total em função da temperatura e concentração de etanol.



Fonte: elaborado pelos autores (2021).

Pela Figura 5 verifica-se que da mesma forma com os compostos fenólicos, a concentração de etanol apresenta curvatura para níveis medianos nas melhores respostas, nas concentrações entre 20 e 50%. Já a temperatura apresentou-se mais expressiva a partir de 40 $^{\circ}\text{C}$.

4. CONCLUSÕES

Na execução da cinética de extração foi observado que em poucos minutos de extração foram obtidos grandes conversões em compostos fenólicos e atividade antioxidante. O que comprova a qualidade da matéria prima na obtenção dos extratos. O tempo de 50 min extração em banho ultrassom resultou em maiores concentrações de compostos fenólicos totais. Entretanto, essa variável necessita passar por avaliações mais profundas, visto que não foi evidenciada diferença significativa entre os tempos. Outro ponto que deve ser levado em consideração é o impacto positivo na redução do tempo pela busca da eficiência energética.

Na execução do Delineamento Composto Central Rotacional os extratos obtiveram grandes conversões alcançando teores de CFT entre 54,48 a 88,58 mg AGE/g amostra seca e AAT entre 337,06 a 426,58 $\mu\text{mol TE/g}$ amostra seca. Tanto a temperatura e quanto a

concentração de etanol exerceram diferença significativa ($p < 0,05$) para compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total. A temperatura exerceu efeito positivo no sentido de que se obtém maiores rendimentos com um incremento na variável. Para concentração de etanol o efeito apresentou-se de forma negativa e quadrática, no sentido de que concentrações medianas de etanol contribuem para maiores conversões.

Por fim, os resultados se demonstraram com alto potencial comparado a outros estudos. Isso se deve ao fato do material já ter passado por uma breve descaracterização de sua composição, contribuindo a ação do solvente na extração.

5. REFERÊNCIAS

- AITKEN, A. G.; HEWETT, E. W. **Fresh Facts: New Zealand Horticulture 2019**. Disponível em: <<https://www.freshfacts.co.nz/files/freshfacts-2019.pdf>> Acesso em: out, 2020.
- BANERJEE, S. et al. Valorisation of pineapple wastes for food and therapeutic applications. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 82, p. 60-70, dez. 2018
- BORGES, A. et al. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. **Microbial Drug Resistance**, v. 19, n. 4, p. 256–265, 2013.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CAMPOS, D. A. et al. Management of Fruit Industrial By-Products—A Case Study on Circular Economy Approach. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 1-22, 13 jan. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25020320>.
- CARMONA-CABELLO, M. et al. Valorization of food waste based on its composition through the concept of biorefinery. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, 14, p. 67–79, 2018 <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.06.011>
- CARNIEL, N. et al. Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Acids and Flavonoids from *Physalis angulata*. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 3, p. 1–11, 2017.
- CARVALHO, C. et al. **Anuário Brasileiro de Horti & Fruti 2020**. Santa Cruz do Sul, RS: Editora Gazeta Santa Cruz, p.100, 2019.
- CHEOK, C. Y et al. Current trends of tropical fruit waste utilization. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 58: 3, 335 -361, 2018. DOI: 10.1080 / 10408398.2016.1176009
- CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 34, p. 540-560, jan. 2017
- COSTA, M. G.; BUCEK, E. U. Enemp 2017. v. d, p. 1–7, 2017.
- DO AMARANTE, C. V. T et al. Phenolic content and antioxidant activity of fruit of Brazilian genotypes of feijoa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 12, p. 1223–1230, 2017.

- DURMIC, Z.; BLACHE, D. Bioactive plants and plant products: effects on animal function, health and welfare. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1-4, p. 150–162, 2012.
- EPAGRI: Projeto da Epagri quer popularizar a goiaba-serrana no Brasil: Disponível em:<<https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2020/03/20/projeto-da-epagri-quer-popularizar-a-goiaba-serrana-no-brasil/>> Acesso em: jun, 2020.
- ESPARZA, I. et al. Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches. **Journal of Environmental Management**, [S, L], v. 265 p. 110510-110528, jul, 2020.
- GAMBIN, L. de B. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS EXTRAÍDOS DA GOIABA-SERRANA (*Acca sellowiana*) EM CÉLULAS DE MELANOMA CUTÂNEO SK-Mel-28**. 2020. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2020.
- HSU, J. C. Stepwise multiple comparisons with the best. **Journal Of Statistical Planning And Inference**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 197-204, 1992.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 2: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 2008. p. 21-22.
- KELES, H. et al. The effects of *Feijoa sellowiana* fruits on the antioxidant defense system, lipid peroxidation, and tissue morphology in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 3, p. 318–325, 2012
- KUMAR, H. et al. Fruit and Vegetable Peels: Utilization of High Value Horticultural Waste in Novel Industrial Applications. **Molecules**, [S,L], v. 25 p. 2812-2832, jun, 2020.
- LIMA, I. A. S. I. et al. Extração de compostos fenólicos do noni (*Morinda citrifolia* Linn) empregando energia ultrassônica. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 14, n. 4, 2018.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Plano Nacional de desenvolvimento da fruticultura. p. 49. [S. l.: s. n.], 2018.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro** - região sul. Brasília: MMA, 2011.

- MOSBAH, H. et al. Phytochemical characterization, antioxidant, antimicrobial and pharmacological activities of *Feijoa sellowiana* leaves growing in Tunisia. **Industrial Crops and Products**, v. 112, n. December 2017, p. 521–531, 2018.
- PASQUARIELLO, M. S. et al. Agronomic, nutraceutical and molecular variability of feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) germplasm. **Scientia Horticulturae**, v. 191, p. 1–9, 2015.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Fruit peels as sources of non-extractable polyphenols or macromolecular antioxidants: analysis and nutritional implications. **Food Research International**, [S.L.], v. 111, p. 148-152, set. 2018.
- ROESLER, R., et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 27, p. 53–60. 2007
- SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations - A review of current status. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 53, p. 10–23, mar. 2012
- SILVA, R. W. V. da et al. Uso da metodologia de superfície de resposta na otimização da extração de compostos fenólicos da casca dos frutos de *Hymenaea courbaril* L. (Jatobá). **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.L.], v. 22, p. 1-13, 2019.
- TUNCEL, N. B.; YILMAZ, N. Optimizing the extraction of phenolics and antioxidants from feijoa (*Feijoa sellowiana*, *Myrtaceae*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 1, p. 141–150, 13 jan. 2015.
- VILLACÍS-CHIRIBOGA, J. et al. Valorization of byproducts from tropical fruits: extraction methodologies, applications, environmental, and economic assessment. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 405-447, 16 fev. 2020.
- WEN, C. et al. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 48, p. 538-549, nov. 2018.
- YAHIA, E. M.; GUTIÉRREZ-OROZCO, F.; LEON, C. A. DE. Phytochemical and antioxidant characterization of mamey (*Pouteria sapota* Jacq. *H.E. Moore & Stearn*) fruit. **Food Research International**, [S.L.], v. 44, n. 7, p. 2175-2181, ago. 2011.

ZHU, Z. et al. Green ultrasound-assisted extraction of anthocyanin and phenolic compounds from purple sweet potato using response surface methodology. **International Agrophysics**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 113-122, 2016