



UFRPE

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO MIX DE FARINHAS DE RESÍDUOS DA
AGROINDÚSTRIA**

MARIANA COSTA FONSÊCA DA SILVA

Recife
2015

MARIANA COSTA FONSÊCA DA SILVA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO MIX DE FARINHAS DE RESÍDUOS DA
AGROINDÚSTRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: PROF^a DR^a ENAYDE DE ALMEIDA MELO

CO-ORIENTADORA: PROF^a DR^a ANDRELINA MARIA PINHEIRO SANTOS

Recife
2015

Dedico este trabalho à Nossa Senhora Virgem Santíssima

AGRADECIMENTOS

À Deus Trino, Pai, Filho e Espírito Santo, Santa Maria e Santa Filomena.

À minha família, Mãe, irmão, Marido e Pai (in memoriam), coluna sagrada que sempre me acompanharam com seu apoio, compreensão, atenção e carinho principalmente nas horas difíceis.

À professora Enayde por todos os ensinamentos, paciência e compromisso que devotou no meu aprendizado.

À co-orientadora Andreлина Pinheiro pela disponibilidade, paciência e ensinamentos.

Aos professores do curso de pós-graduação que contribuíram com a minha formação.

À Rita, Rosa e a Jaqueline, Técnica do laboratório, pelo ensinamento, ajuda, paciência e boa vontade sempre.

À Jocelane, Fabiana, Sydia, Tatiana, Augusto, Helen, Keliane e Robson pela ajuda e companhia no laboratório e pelos momentos divertidos e sempre descontraídos quando estávamos juntos, vocês são exemplos de companheirismo nas dificuldades diárias do laboratório.

À todos os meus amigos por reforçar meu ânimo e pela compreensão nos momentos de ausência.

À todos os funcionários do programa de pós-graduação.

À Capes pela concessão da bolsa de mestrado.

À todas as pessoas que me ajudaram a concluir esta importante trajetória dos meus estudos.

“Não há lugar para a sabedoria onde não há paciência.”

Santo Agostinho

RESUMO

Considerando a produção excessiva de resíduos agroindustriais, materiais que ainda detêm compostos bioativos com propriedade antioxidante, este trabalho teve como objetivo avaliar o teor de fenólicos e o potencial antioxidante da mistura de farinhas dos resíduos de abacaxi, acerola e goiaba. Os resíduos, cedidos por uma indústria de polpa congelada de frutas, foram secos em estufa com circulação de ar a 40°C. Após a desidratação foram triturados e peneirados (16 mesh) para a obtenção de farinhas de granulometria uniforme que foram submetidas a determinação analítica para a quantificação do teor de umidade, proteína, lipídeos, resíduo mineral fixo (cinzas), e carboidratos totais. Em seguida, aplicando o planejamento experimental para misturas (simplex-centroide), os resíduos combinados em diferentes proporções foram adicionados ao etanol 60% e água e submetidos a agitação (400rpm), em temperatura de 60°C, por 30 min para a obtenção dos extratos hidroetanólico e aquoso, respectivamente, tendo como resposta a concentração de fenólicos e a capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos obtidos. Definidas as proporções dos resíduos que propiciaram a maior extração de fenólicos totais, os resíduos foram, também, submetidos à extração com metanol (60%) e com acetona (60%), nas mesmas condições. Nesses extratos foram quantificados os fenólicos totais e a capacidade de sequestrar o radical DPPH e radical ABTS. As farinhas dos resíduos apresentaram teor de umidade $< 10 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, teores de cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos totais que variaram de 1,71 a 2,47 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$; 0,78 a 0,95 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$; 1,61 a 8,66 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ e 83,69 a 89,19 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$, respectivamente. O planejamento de mistura demonstrou que, independente do solvente extrator, a maior quantidade de fenólicos pode ser extraída ao empregar 100% do resíduo de acerola; 50% de resíduo de acerola + 50% do resíduo de goiaba; 50% de resíduo de acerola + 50% do resíduo de abacaxi, e a mistura dos três resíduos em proporções iguais. Os extratos hidroetanólico apresentaram capacidade de sequestro do radical DPPH superior a 80% enquanto que os respectivos extratos aquosos alcançaram valor inferior a 65%. Maiores quantidades de fenólicos foram extraídas destas misturas empregando acetona 60%, entretanto, frente à necessidade da retirada do solvente, na perspectiva de emprega-lo em alimentos, observou-se que o processo de evaporação do solvente promoveu redução significativa no teor dos fenólicos extraídos. A capacidade antioxidante dos extratos destas misturas frente ao radical ABTS foi maior para o extrato hidroacetônico do resíduo de acerola (67,75 μM Trolox/g de farinha). Os extratos aquosos das misturas de farinhas dos resíduos de acerola e goiaba bem como o das misturas de acerola e abacaxi apresentaram uma correlação forte e positiva ($r=0,9666$ e $r=0,9632$, respectivamente) entre a concentração de fenólicos e a capacidade antioxidante dos extratos. Os resultados demonstraram a viabilidade de empregar misturas de resíduos e etanol 60% para extração de fenólicos com perspectivas de aplicá-los em alimentos.

Palavras chave: resíduos agroindustriais, compostos fenólicos, capacidade antioxidante, simplex-centroide, DPPH, ABTS.

ABSTRACT

Considering the excessive production of agro-industrial waste materials that still holds bioactive compounds with antioxidant properties, this study aimed to evaluate the phenolic content and the antioxidant potential of the mixture of flour of pineapple waste, acerola and guava. Waste, from a frozen fruit pulp industry, were dried in an oven with air circulation at 40°C. After dehydration were crushed and sieved (16 mesh) to obtain uniform particle size of meals were submitted to analytical determination to quantify the moisture content, protein, lipids, fixed mineral residue (ash), and total carbohydrates. Then, by applying to the experimental design mixtures (simplex centroid), residues combined in different proportions were added to 60% ethanol and water and subjected to shaking (400rpm) at a temperature of 60°C for 30 min to obtain extracts of hydroethanol and watery, respectively, and in response to concentration of phenolic and the scavenging capacity of DPPH radical of the extracts. Defined the proportions of the waste that results in the highest extraction of phenolic compounds, the residues were also subjected to extraction with methanol (60%) and acetone (60%) under the same conditions. In these extracts were quantified total phenolics and the ability to kidnap the DPPH and ABTS radicals. Flours waste presented moisture content $<10 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, ash content, proteins, lipids and total carbohydrates ranging from 1,71 to 2,47 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$; 0,78 to 0,95 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$; From 1,61 to 8,66 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ and 100g 83,69 to 89,19 g^{-1} , respectively. The mixture of planning has shown that, regardless of the solvent extractor, the highest amount of phenolic can be extracted to use 100% of acerola residue; 50% acerola residue + 50% of guava residue; 50% acerola residue + 50% pineapple residue, and the mixture of the three residues in equal proportions. The hydroethanol extracts showed DPPH radical scavenging capacity greater than 80% while their aqueous extracts value reached less than 65%. Larger quantities of phenolic these mixtures were extracted using 60% acetone, however, due to the necessity of removal of the solvent, with a view to use it in food, it was observed that the solvent evaporation process caused a significant reduction in the content of the extracted phenolic. The antioxidant capacity of the extracts of these mixtures against the ABTS radical was higher for acetone extract with waste acerola (67,75 $\mu\text{M Trolox/g flour}$). The aqueous extracts of mixtures of flour waste acerola and guava as well as mixtures of acerola and pineapple showed a strong positive correlation ($r=0,9666$ and $r=0,9632$, respectively) between the concentration of phenolic and the ability antioxidant extracts. The results demonstrated the feasibility of using mixtures of waste and 60% ethanol for extraction of phenolic with prospects to apply them in food.

Keywords: agroindustrial waste, phenolic compounds, antioxidant capacity, simplex-centroid, DPPH, ABTS.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - Estrutura química das principais classes de compostos fenólicos.....19

ARTIGO

FIGURA 01 - Fluxograma da obtenção das farinhas dos resíduos agroindustriais de acerola, abacaxi e goiaba.....41

FIGURA 02 - Distribuição dos pontos experimentais (misturas) em um *simplex* para 3 componentes.....42

FIGURA 03 - Aspecto visual dos resíduos agroindustriais *in natura* de acerola (A), abacaxi (B) e goiaba (C) antes de serem submetidos a secagem.....45

FIGURA 04 - Farinhas dos resíduos de acerola (A), abacaxi (B) e goiaba (C) com granulometria de 16 mesh.....46

FIGURA 05 - Modelos a) linear, b) quadrático e c) cúbico, para a extração de fenólicos das misturas em etanol 60% aquecido a 60°C.....54

FIGURA 06 - Modelos a) linear, b) quadrático e c) cúbico, para o % de sequestro do radical DPPH das misturas em etanol 60% aquecido a 60°C.....54

FIGURA 07 - Modelos a) linear, b) quadrático e c) cúbico, respectivamente, para a extração de fenólicos das misturas em água aquecida a 60°C.....55

FIGURA 08 - Modelos linear, quadrático e cúbico, respectivamente, para o % de sequestro do radical DPPH das misturas em água aquecida a 60°C.....55

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

- TABELA 01** - Matriz da composição das misturas de farinhas de resíduos agroindustriais definida no planejamento experimental de mistura simplex-centroide..43
- TABELA 02** - Composição química das farinhas dos resíduos agroindustriais.....46
- TABELA 03** - Teor de fenólicos e capacidade de sequestro do radical DPPH de extratos hidroetanólicos e aquosos obtidos a partir de misturas de farinhas de resíduos agroindustriais definidas no planejamento experimental de mistura simplex-centroide.....48
- TABELA 04** - Coeficientes de resposta para fenólicos e DPPH nos modelos linear, quadrático e cúbico para a extração com etanol 60% aquecido a 60°C.....51
- TABELA 05** - Coeficientes de resposta para fenólicos e DPPH nos modelos linear, quadrático e cúbico para a extração com água aquecida a 60°C.....51
- TABELA 06** - Teor de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico (EAG) em extratos obtidos a partir de resíduos agroindustriais utilizando diferentes solventes.....56
- TABELA 07** - Teor de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico (EAG) de extratos de resíduos agroindustriais.....59
- TABELA 08** - Capacidade de sequestro do radical DPPH de extratos da farinha de resíduos agroindustriais.....60
- TABELA 09** - Capacidade antioxidante de extratos da farinha do resíduo agroindustriais através do radical ABTS.....62
- TABELA 10** - Capacidade de sequestro do radical DPPH em função da concentração de fenólicos nos extratos dos resíduos agroindustriais.....63

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	13
2.0 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3.0 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Frutas tropicais e resíduos agroindustriais	16
3.2 Compostos fenólicos e sua capacidade antioxidante	18
3.3 Antioxidantes sintéticos e naturais e a relação com a saúde	20
3.4 Extração de compostos fenólicos	24
4.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
5.0 CAPÍTULO I	36
ARTIGO: Planejamento de mistura simplex-centroide aplicado ao processo de extração de fenólicos a partir de farinhas de resíduos agroindustriais	37
RESUMO	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAIS E MÉTODOS	40
RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1.0 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um grande número de espécies frutíferas nativas e exóticas subexploradas e de potencial interesse para a agroindústria (ALVES, BRITO, RUFINO; SAMPAIO, 2008). No ranking mundial é o terceiro produtor de frutas frescas e processadas, ficando atrás apenas da China e Índia (FAO, 2009). Como produtor de frutas tropicais é considerado o maior do mundo, com 47 % de sua produção destinada ao mercado de fruta fresca e 53% ao de processamento para a elaboração de produtos como sucos, geléias, néctares, compotas, etc (IBRAF, 2009). As cascas e as sementes, resultantes desse processamento, constituem o resíduo sólido que é descartado. No entanto, este material ainda detém quantidades expressivas de fitoquímicos bioativos, pois de acordo com alguns autores, o conteúdo de compostos fenólicos, bem como a capacidade antioxidante é particularmente mais elevado na casca de algumas frutas, do que na fruta inteira (AJILA et al., 2007; KUNRADI VIEIRA et al., 2009).

A massa dos resíduos sólidos resultantes do processamento de frutas tropicais pode se aproximar ou até mesmo ultrapassar a do produto correspondente, afetando o crescimento da economia das cultivares de frutos tropicais (MILJKOVIC; BIGNAMI, 2002). Portanto, grandes quantidades de resíduos agroindustriais são geradas. Esse material, na maioria das vezes, é depositado no solo de áreas adjacente aos locais de produção, utilizados como matéria-prima na alimentação animal ou incinerados (MARTÍN et al., 2010). Uma alternativa para melhorar a gestão destes resíduos é a implementação de novos processos, a exemplo, da produção de fertilizantes orgânicos, de pectina, de bio-óleos, de óleos essenciais e de compostos antioxidantes, minimizando a poluição ambiental causada pelo seu descarte na natureza, além de agregar valor a esse material (ABECITRUS, 2008).

Atualmente, há um interesse crescente em encontrar fontes naturais de fitoquímicos com propriedade antioxidante que possam ser utilizados em alimentos, em substituição aos antioxidantes sintéticos, visando a proteção destes alimentos contra a degradação oxidativa, uma vez que os sintéticos estão relacionados a efeitos tóxicos e cancerígenos (BOUAYED; BOHN, 2010; MOO-HUCHIN et al., 2014). Dentro deste contexto, encontram-se os compostos fenólicos, fitoquímicos presentes nos resíduos agroindustriais que apresentam propriedade antioxidante (DJILAS et al., 2009). Estes antioxidantes naturais têm se destacado devido à sua inocuidade e a potenciais efeitos nutricionais e terapêuticos associados, apresentando uma imagem muito positiva e uma grande aceitação por parte dos consumidores, além de possuir grande impacto

industrial, econômica e ambiental (RUFINO et al., 2011; SUN-WATERHOUSE, 2011; AYALA-ZAVALA et al., 2011).

Entretanto, para a utilização dos compostos antioxidantes dos resíduos agroindustriais, torna-se necessário a sua extração da matriz que pode ser realizada por diversas técnicas, haja vista que não existe um procedimento padronizado. A maioria das técnicas convencionais baseia-se no poder extrator do solvente, aliado a aplicação de calor e a agitação. No entanto, a eficiência da extração de qualquer método convencional depende, principalmente, da seleção do solvente (COWAN, 1999). A polaridade do composto alvo é o fator mais importante para a escolha do solvente. Porém, além da relevância da afinidade molecular entre o solvente escolhido e o soluto a ser extraído, deve-se, também, considerar a transferência de massa, o uso de co-solvente, a segurança ambiental, a toxicidade humana e a viabilidade financeira (AZMIR et al., 2013).

Os resíduos agroindustriais de abacaxi, acerola e goiaba e apresentam em sua constituição compostos fenólicos em quantidades expressivas e forte potencial antioxidante. Caetano et al. (2009) e Nascimento et al. (2010) relataram que o extrato hidroetanólico do resíduo de acerola e de goiaba apresentaram, respectivamente, 1654 a 1780 µg/mL e 514 µg/mL de fenólicos totais, enquanto que no extrato aquoso o teor deste fitoquímico foi de 922 a 952 µg/mL e de 498 µg/mL, respectivamente. No extrato hidrometanólico do resíduo de abacaxi, Silva (2012) encontrou um teor de fenólicos totais de 500 a 600 µg/mL. A utilização da mistura destes resíduos agroindustriais pode vir a ampliar o teor de fenólicos extraídos bem como o potencial antioxidante quando comparados ao dos resíduos isolados.

Assim, este trabalho tem como intuito empregar o planejamento experimental de mistura simplex-centróide de modo a definir a melhor composição do “mix” de farinhas desses resíduos que possibilite obter extratos com elevado teor de fenólicos e de elevada capacidade antioxidante.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estabelecer a proporção das farinhas dos resíduos agroindustriais de acerola, goiaba e abacaxi para compor uma mistura que propicie a obtenção de extratos com propriedade antioxidante e elevado teor de fenólicos.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar quimicamente as farinhas dos três resíduos agroindustriais;
- Definir as proporções das farinhas dos resíduos para obtenção dos extratos;
- Avaliar os extratos obtidos a partir do mix das farinhas dos resíduos quanto ao teor de fenólicos e o potencial antioxidante;
- Investigar a existência de correlação entre a concentração de fenólicos e a capacidade antioxidante dos extratos.

3.0 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Frutas tropicais e resíduos agroindustriais

A produção de frutas exóticas tropicais, seu comércio e consumo têm aumentado significativamente no mercado doméstico e internacional, devido às suas propriedades sensoriais atraentes e um crescente reconhecimento de seu valor nutritivo e terapêutico (GONZALEZ-AGUILAR et al., 2010; RUFINO et al, 2010; BICAS et al, 2011; YANG et al., 2011). Neste contexto, o Brasil se destaca devido à sua elevada produção de diferentes árvores frutíferas nativas e exóticas, como resultado de sua vasta extensão territorial e sua inserção, principalmente nas zonas de clima tropical e temperado (PEREIRA et al., 2013). As frutas tropicais, a exemplo do abacaxi (*Ananas comosus*), acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) e goiaba (*Psidium guajava* L.), são ricas fontes de vitaminas hidrossolúveis, pró-vitamina A e de outros fitoquímicos (MÜLLER et al., 2010; ROSSO, 2013; SILVA et al., 2014).

O abacaxi (*Ananas comosus*) originário da América do Sul, apresenta uma produção mundial entre 16 e 19 milhões de toneladas, sendo o Brasil o segundo maior produtor do mundo (FAO, 2010), com um enorme mercado interno. Este fruto é comumente consumido em forma de doce e de outros produtos processados, como suco de abacaxi (RATTANATHANALERK et al., 2005). Os resíduos do processamento variam entre 45% e 65% do fruto, refletindo um grande desafio para a eliminação destas fontes de compostos orgânicos, provocando a poluição ambiental se não forem utilizados e/ou descartados com sucesso (SILVA, et al. 2013).

A acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) possui as mais extensas plantações na América do Sul, com destaque para o Brasil, e Índia (LORENZI et al., 2006; DE ASSIS et al., 2009). Apresenta em sua casca, subproduto das indústrias de polpa desta fruta, níveis relativamente elevados de antocianinas que podem ser exploradas como uma fonte potencial de pigmentos (VENDRAMINI; TRUGO, 2004).

A casca e polpa de goiaba (*Psidium guajava* L.) podem ser efetivamente utilizado como uma fonte de fibra dietética antioxidante (JIMENEZ-ESCRIG et al., 2001). Os resíduos constituem apenas 10-15% do fruto. As sementes, geralmente descartadas durante o processamento de suco e polpa, contem 5-13% de óleo rico em ácidos graxos essenciais (SILVA et al, 2013).

Muitas frutas tropicais são transformadas em produtos naturais como sucos, geléias, polpas e extratos, resultando destes processos, sementes, cascas e outras partes

rotineiramente descartado como inúteis, integrando os resíduos agroindustriais cujo descarte, pode promover danos ambientais (MAKRIS et al., 2007). Em todo o mundo são gerados anualmente milhões de toneladas de resíduos sólidos provenientes do processamento de produtos agro-alimentares que estão susceptíveis de serem subutilizados ou descartados (TALCOTT et al, 2003; ISCI, DEMIRER, 2007). Estes resíduos apresentam elevada composição orgânica, como fósforo e nitrogênio e o seu descarte no meio ambiente ocasiona sérios problemas, devido à liberação excessiva de compostos bioativos, podendo causar eutrofização de ambientes aquáticos, com consequente diminuição de oxigênio dissolvido, causando morte de organismos aeróbios e desequilíbrio do ecossistema local (PELTZER et al., 2008). Além disso, tem se demonstrado que os resíduos de certos frutos podem apresentar uma atividade antioxidante mais elevada do que a polpa (GORINSTEIN et al., 2001)

Em meados de 2010 foi aprovada no Brasil a lei que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, que tem como princípios e objetivos, dentre outros, o reconhecimento do resíduo sólido reutilizável e reciclável como um bem econômico e de valor social, gerador de trabalho e renda, visando ao desenvolvimento sustentável. A lei classifica, quanto à origem, “resíduos industriais” como sendo aqueles gerados nos processos produtivos e instalações industriais, podendo ser utilizados como fonte de matéria-prima para pesquisas de compostos bioativos (BRASIL, 2010).

Tem existido um grande esforço para a valorização de alimentos e resíduos agrícolas, com a criação de bioprodutos de valor agregado, biocombustíveis ou ingredientes alimentares (MAKRIS et al., 2007). Nos últimos anos, os resíduos agrícolas e industriais são focados como materiais que podem ser usados para se obter antioxidantes naturais (LAFKA et al., 2007; VATAI et al., 2009; KNEZ, 2009; SUÁREZ et al., 2010). Portanto, a implementação de processos para a extração de compostos antioxidantes a partir dessa matéria prima é uma alternativa de melhor gestão dos resíduos, minimizando a poluição ambiental e agregando valor a este material (ABECITRUS, 2008; REZZADORI et. al, 2012). Além disso, a plena utilização dos frutos pode levar a indústria a um agronegócio com menor desperdício, uso eficiente e ecológico dos resíduos aumentando a rentabilidade industrial (AYALAZAVALA et al., 2011).

Os resíduos agroindustriais representam uma fonte incrível de matérias-primas e compostos de valor agregado e há, portanto, a necessidade de se desenvolver novas tecnologias de recuperação e reutilização, junto com o desenvolvimento de ideias sustentáveis, tecnologias e processos para conter a perda dos compostos antioxidantes

presentes nestes resíduos (REIS, et al. 2012). Assim, estes resíduos podem ser usados como uma fonte de ingredientes para a indústria alimentar, uma vez que muitas cascas e sementes de frutas têm alto teor de fenólicos, compostos com propriedades antioxidantes (PURAVANKARA et al., 2000).

3.2 Compostos fenólicos e sua capacidade antioxidante

A maioria das propriedades benéficas de frutas e hortaliças têm sido atribuída aos compostos bioativos, substâncias químicas, nutrientes ou não, denominados de fitoquímicos. Integram este grupo, os compostos fenólicos, metabólitos secundários de plantas, amplamente distribuídos em todo o reino vegetal, os quais são responsáveis por funções estruturais e de proteção nas plantas, contribuindo também para o sabor, cor, adstringência e amargor de frutas e hortaliças (ANTOLOVICH et al., 2000; TOMAS-BARBERAN, et al., 2000; NACZK; SHAHIDI, 2004; LAPORNIK et al., 2005; SOTO et al., 2011).

Estas substâncias fenólicas ou polifenóis incluem muitas classes de compostos que variam de ácidos fenólicos e flavonóides entre outros (Figura 1). Possuem um anel aromático tendo um ou mais grupos hidroxila (SPANOS; WROLSTAD, 1992), sendo o efeito antioxidante destes compostos atribuído ao poder redutor do grupo hidroxila aromático, que é capaz de quelar os metais de transição, reduzir os radicais livres reativos e espécies reativas de oxigênio (SHAHIDI et al., 1992; PEREIRA et al., 2013), além de inibirem enzimas oxidativas (LIAO; YIN, 2000; ANTOLOVICH et al., 2002, EDENHARDER, GRUNHAGE, 2003).

Os principais antioxidantes fenólicos de plantas pode ser divididos em 4 grupos gerais: ácidos fenólicos (gálico, ácido protocatecuico, ácido caféico e ácidos rosmarínico), diterpenos fenólicos (carnosol e ácido carnósico), os flavonóides (quercetina e catequina) e óleos volatéis (eugenol, carvacrol, timol e mentol) (SHAN et al., 2005).

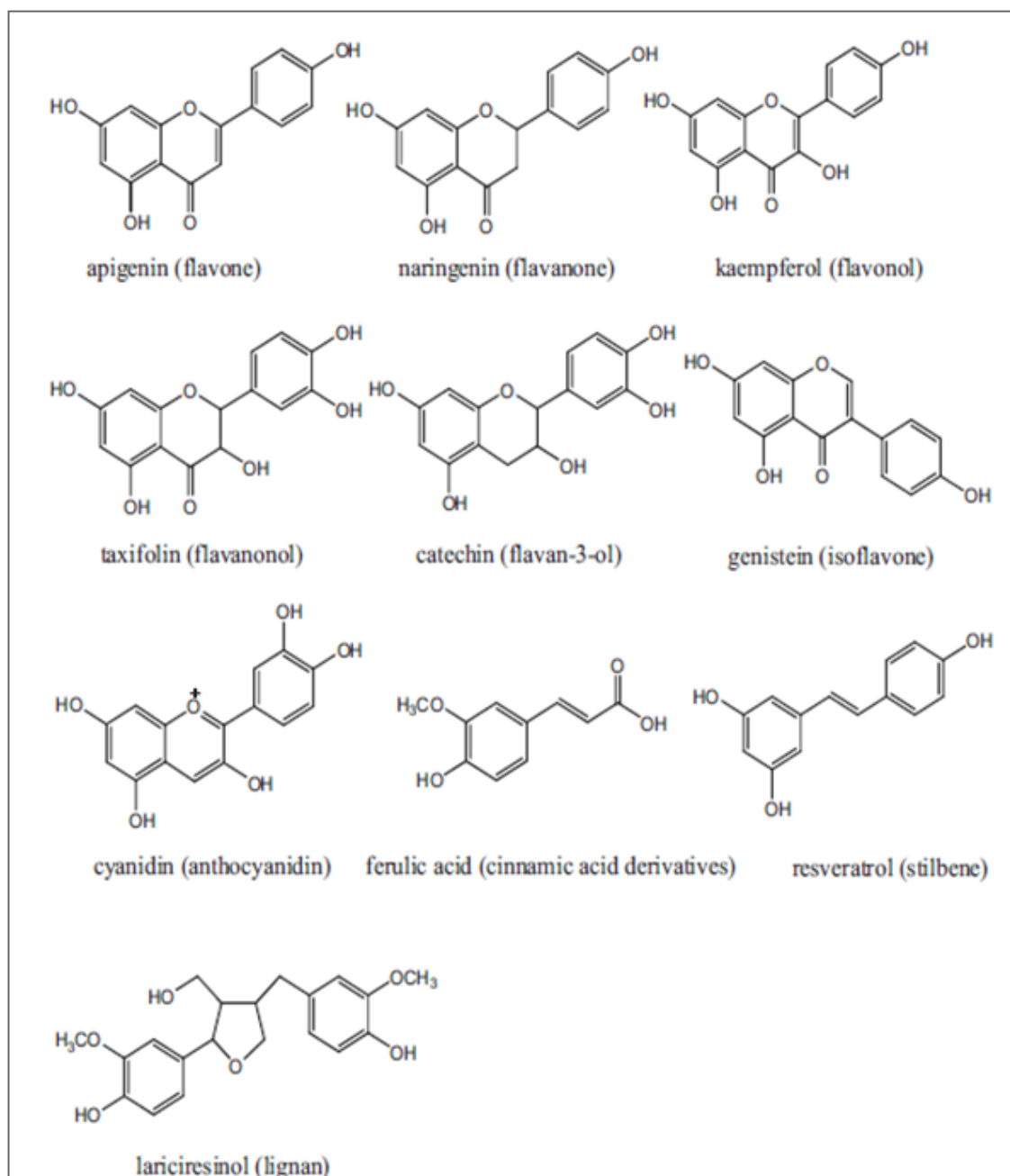


Figura 1. Estrutura química das principais classes de compostos fenólicos. (FONTE: SHAHIDI; ZHONG, 2010).

Estes fitoquímicos são extensivamente estudados devido aos seus diversos efeitos sobre a saúde, como na prevenção de inflamações crônicas, diabetes e redução do risco do desenvolvimento do câncer, Alzheimer, catarata e Parkinson. Os efeitos benéficos têm sido atribuídos, principalmente, à propriedade antioxidante dos compostos fenólicos (PESCHEL et al., 2006; ACOSTA-ESTRADA et al., 2014). Um composto antioxidante pode ser definido como uma substância que, em baixas concentrações, quando comparada com a do substrato oxidável, retarda ou inibi

significativamente a oxidação do referido substrato (MOREIRA, MANCINI, 2003; ATOUI et al., 2005).

Além das reações de oxidação que ocorrem no organismo e que estão relacionadas à instalação de diversas doenças crônicas não transmissíveis, várias operações do processamento de alimentos favorecem as reações de oxidação, cuja intensidade encontra-se diretamente relacionada a uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos, que constituem o potencial redox do sistema (KARPIŃSKA, et al., 2001; ROMAN et al., 2010). Esta reação que inclui as etapas de iniciação, de propagação e de terminação, inicia-se quando um átomo de hidrogênio instável é removido a partir da cadeia de ácidos graxos do alimento, com a produção de radical livre que reage rapidamente com o oxigênio para formar o radical peroxila. Esse radical, por sua vez, remove o hidrogênio de outra cadeia de hidrocarbonetos produzindo hidróperóxido e um novo radical livre que pode perpetuar a reação em cadeia até que se esgote o substrato (PEARSON et al., 1977; ENSER, 1987; ROMAN et al., 2010). Os produtos finais desta reação, mesmo presentes em reduzidas concentrações, levam à alteração do odor e sabor dos alimentos; à destruição de ácidos graxos essenciais (linoléico/linolênico), bem como de carotenóides, vitamina A e α -tocoferol, com consequente redução do teor desses nutrientes nos alimentos, alterando o valor nutritivo do produto alimentício (HUDSON, 1990; FERREIRA et al., 2007; BIGLARI, et al., 2008).

Para reduzir a velocidade das reações de oxidação e prolongar a vida de prateleira de produtos alimentares, a indústria de alimentos tem utilizado antioxidantes sintéticos, substâncias que tiveram seu uso aprovado em alimentos após investigações que comprovaram sua segurança dentro de um limite de ingestão diária. Dessa forma, estão sujeitas às legislações específicas de cada país ou normas internacionais (GUERRA, LAJOLO, 2005; TAKEMOTO, et al., 2009).

3.3 Antioxidantes sintéticos e naturais e a relação com a saúde

Com a introdução de alimentos processados no final do século 19, o uso de vários aditivos alimentares aumentou expressivamente, com mais de 2.500 destes compostos sendo adicionados intencionalmente aos alimentos a fim de manter certas propriedades ou para prolongar a vida de prateleira (WEISS 1982; BRANEN et al., 2001; MCCANN et al., 2007).

A qualidade dos alimentos é definida em termos de aceitabilidade pelo consumidor, tais como as características: sabor, aroma e aparência. Com o aumento da demanda por alimentos convenientes deu-se um rápido crescimento na categoria de produto para consumo imediato (HOFSTRAND, 2008). Muitos dos ingredientes alimentares contêm ácidos graxos insaturados que são bastante sensíveis a deterioração da qualidade, especialmente pela oxidação lipídica. Por este motivo, os esforços para reduzir a oxidação têm aumentado, sendo muitas vezes a melhor estratégia a adição de antioxidantes (BREWER, 2011).

Os antioxidantes são um dos subgrupos dos conservantes, essenciais para prolongar a vida útil de muitos alimentos. Estes previnem a oxidação de moléculas doando um átomo de hidrogênio ou um elétron, tornando-se reduzidos na forma de radicais, mas ao contrário dos outros radicais, os antioxidantes quando na forma de radicais são estáveis e não permitem mais que reações ocorram, portanto, preservam o status do sistema no alimento (CAROCHO, FERREIRA, 2013).

Antioxidantes alimentares são utilizados para estender a vida de prateleira, impedindo a deterioração dos alimentos, adição de sabores ou odores e a modificação da aparência (NANDITHA; PRABHASANKAR, 2009). A peroxidação lipídica e a rancificação são os tipos mais comuns de reações que ocorrem nos gêneros alimentícios (SANDLER, 1982; BORIS, MANDEL 1994; SASAKI et al., 2002). Dentre os antioxidantes sintéticos, também denominados aditivos alimentares, estão o BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), PG (galato de propila) e TBHQ (*terc*-butil hidroquinona) que têm despertado preocupação quanto às doses de segurança e toxicidade (MADHAVI; DESPANDE; SALUNKE, 1996; BARREIROS; DAVID, 2006, MOHDALY et al., 2010). Muitos antioxidantes sintéticos foram proibidos ao longo dos anos, alguns deles em todo o mundo e outros só em países específicos pela adoção de legislações para regulamentar a sua aplicação (WEISS 1982; BRANEN et al., 2001; MCCANN et al., 2007).

Existem vários estudos apontando o potencial carcinogênico e efeito deletério à saúde humana dos antioxidantes BHT e BHA (MCFARLANE et al., 1997; WILLIAMS et al., 1999; BOTTERWECK et al., 2000; ENGIN et al., 2011; CAROCHO; FERREIRA 2013). O antioxidante PG é apontado como precursor de dermatite de contato, indutor mutagênico, e que o seu potencial antioxidante, sob certas condições pode torna-se pro-oxidante (TAYAMA; NAKAGAWA 2001; ZURITA et al., 2007; AMADASI et al., 2009; HAN; PARQUE 2009; CHEN et al., 2011; TIAN et al., 2012). Além disso, BHA e BHT possuem custos de produção mais elevados e capacidade

antioxidante mais baixa quando comparados a alguns antioxidantes naturais, como os tocoferóis (SHERWIN, 1990; WANASUNDARA; SHAHIDI, 1998). Para fins de segurança, os Estados Unidos através da Food and Drug Administration (FDA) limita o uso de BHT a 0,02% ou 200 ppm por teor de lipídios nos alimentos (SHUI; LEONG, 2006).

Como alternativa natural e provavelmente mais segura, antioxidantes extraídos de frutas e/ou seus resíduos têm se tornado cada vez mais atraente (WILLIAMS, IATROPOULOS, WHYSNER, 1999; BONILLA et al., 1999). Ademais, existe a constante preocupação dos consumidores com a saúde, buscando nos últimos anos o consumo de produtos mais naturais e livres de aditivos. Desde 1994, os consumidores têm manifestado preocupações com a segurança dos conservantes e aditivos alimentares (BREWER; RUSSON 1994; BREWER; PRESTAT 2002; ROJAS; BREWER 2008). Há uma tendência clara pela preferência de rotulagens cada vez mais esclarecedoras (HILLMANN, 2010), por ingredientes alimentares e aditivos orgânicos/naturais com nomes que são familiares, e que sejam saudáveis (JOPPEN, 2006). Em adição, o apelo por fontes sustentáveis e produções ambientalmente amigáveis está forçando a indústria de alimentos considerar a possibilidade de empregar antioxidantes naturais em uma gama de produtos (FASSEAS et al. 2007; BERGER, 2009; DEVATKAL, NAVEENA, 2010).

As pesquisas na área de antioxidantes naturais vêm sendo impulsionadas com vistas a buscar compostos naturais que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos naturais ou químicos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa e minimizar o uso dos antioxidantes sintéticos. Neste sentido, surgem os resíduos sólidos da agroindústria de frutos, constituídos principalmente por cascas e sementes, que ainda apresentam teores significantes de compostos biologicamente ativos que exibem atividade antioxidante (SPIGNO; DE FAVERI, 2007; BABBAR et al., 2014).

Estudos têm demonstrado a presença de compostos antioxidantes em diferentes tipos de resíduos agroindustriais, representando valioso potencial de aplicação na indústria de alimentos (PUUPPONEN-PIMIA et al., 2001; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Shui e Leong (2006) relataram que os antioxidantes obtidos de resíduos de carambola puderam retardar o processo de ranço de óleo em uma extensão maior quando comparado com o BHT. Riya et al. (2013), evidenciaram em resíduo de abacaxi um IC_{50} de $26,36 \pm 0,62 \mu\text{g mL}^{-1}$ em extratos de acetato de etila,

exibindo um promissor potencial antioxidante quando comparado com o padrão Trolox ($IC_{50} = 5 \pm 0.98 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Ademais, os compostos antioxidantes de resíduos agroindustriais podem não só aumentar a estabilidade dos alimentos, através da prevenção da peroxidação lipídica, como também proteger biomoléculas e estruturas supramoleculares, como membranas e ribossomos dos danos oxidativos (OLIVEIRA et al., 2009), atuando como compostos bioativos e nutracêuticos (FERREIRA et al., 2009; SHAHIDI; ZHONG 2010; BREWER 2011; CAROCHO; FERREIRA 2013).

Os polifenóis têm sido utilizados como antioxidantes nas indústrias de carnes e peixes por imersão de carcaças em extratos polifenólicos, permitindo que a oxidação e contaminação bacteriana sejam retardadas (FAN et al., 2008; KUMUDAVALLY et al., 2008; MAQSOOD et al., 2013). Outras abordagens também foram testadas com sucesso, através da incorporação de extratos naturais ricos em polifenóis, que foram capazes de evitar a oxidação lipídica, deterioração, e a formação de colônias de bactérias durante um longo período de tempo quando comparado com os controles, demonstrando uma poderosa ação antimicrobiana e antioxidante (YAO et al., 2004; RASOOLI 2007; SERRA et al., 2008; DAY et al., 2009; TIWARI et al., 2009; BREWER 2011; PILLAI; RAMASWAMY 2012; BANSAL et al., 2013).

Antioxidantes de plantas naturais podem proteger os componentes dos alimentos contra a oxidação sob o efetivo da temperatura e condições de armazenamento. No entanto, as características inerentes (força iônica e pH) dos alimentos, a matriz alimentar (emulsão, esponjosa, aquosa, e proteica) e ingredientes podem influenciar na eficácia do antioxidante. Além disso, o efeito do composto antioxidante numa matriz alimentar pode ser significativamente diferente da atividade de um extrato purificado (BREWER, 2011), porém estes antioxidantes naturais tem a vantagem além das implicações para a saúde o fato deles serem solúveis em água e óleo, de interesse para emulsões, em sistemas alimentares (CRUZ et al., 2007; MOURE et al., 2001).

Alguns polifenóis apresentam boa atividade antioxidante como compostos puros incorporados aos gêneros alimentícios, enquanto outros dependem de sinergismo para realizar os efeitos protetores. Isto é uma desvantagem e, ao mesmo tempo uma oportunidade para a indústria. Por um lado, há um imponente demanda para chegar ao composto que exerce o efeito, mas ao mesmo tempo os sinergismos podem ser oportunidades de pesquisa, o que poderia ser benéfica para a indústria alimentar (CAROCHO; FERREIRA 2013; CAROCHO; FERREIRA 2013b).

Evidencia-se, portanto, que os resíduos agroindustriais de frutas, facilmente disponíveis e baratos, apresentam teor significativo de fitoquímicos antioxidantes. É possível que a combinação de vários resíduos de frutas tropicais pode favorecer a obtenção de extratos com elevado teor de fenólicos e uma capacidade antioxidante considerável, tornando vantajoso avaliar o seu potencial antioxidante. Porém, considerando que o tipo de solvente e a técnica de extração empregados, entre outros fatores, influenciam na eficiência do processo de extração dos compostos fenólicos se faz necessário estabelecer um procedimento que melhor se adeque ao material usado como fonte desses fitoquímicos.

3.4 Extração de compostos fenólicos

A extração é uma etapa importante para a eficiência do processo, que consiste na liberação dos fenólicos das estruturas vacuolares onde eles se encontram, quer pela ruptura do tecido da planta ou por um processo de difusão (ESCRIBANO-BAILÓN; SANTOS-BUELGA, 2003; IGNAT; VOLF; POPA, 2011). A eficácia do processo de extração é influenciada independentemente e/ou de forma interativa por muitos fatores, tais como método de extração empregado, tipo de solvente, concentração de solvente utilizada, temperatura de extração, pH do meio, tempo de extração, tamanho das partículas, assim como a presença de substâncias interferentes (NACZK; SHAHIDI, 2004; PINELO et al., 2005; SILVA et al, 2007).

Vários são os métodos utilizados para o processo de extração de compostos fenólicos, não existindo um procedimento padrão. Pode-se destacar a extração com fluido supercrítico e extração de água subcrítica que são usadas para isolar produtos naturais de diferentes matérias-primas, tais como plantas, subprodutos de alimentos, algas e microalgas (ARVANITOYANNIS; VARZAKAS, 2008). Quando um fluido é forçado a uma pressão e temperatura acima do seu ponto crítico este se torna um fluido supercrítico. O estado de um fluido supercrítico tem sido definido como um estado no qual o líquido e gás são indistinguíveis um do outro, ou como um estado em que o fluido é compressível (isto é, possui um comportamento semelhante ao de um gás), apesar de possuir uma densidade semelhante a de um líquido e, por conseguinte, poder solvente semelhante. Devido à sua baixa viscosidade e alta difusividade relativa, fluidos supercríticos têm melhores propriedades de transporte de líquidos, podendo difundir facilmente através de materiais sólidos e, portanto, podendo dar rendimentos mais rápidos de extração (HERRERO et al., 2006). Enquanto que a extração subcrítica com água, ou seja, a extração com água quente sob pressão, tem surgido recentemente como

uma ferramenta útil para substituir os métodos tradicionais, além de ser uma técnica ecologicamente correta (ARVANITTOYANNIS; VARZAKAS, 2008).

A hidrodestilação ou extração por solvente é o método tradicional para a extração de compostos fenólicos a partir de subprodutos vegetais (CASAZZA et al., 2012). Diferentes solventes, como metanol, etanol, acetona ou combinações destes com água, acetato de etila e também através da destilação a vapor têm sido geralmente utilizados (PÉREZ-ILZARBE et al., 1991; FERNÁNDEZ DE SIMÓN et al., 1992; SHAHIDI, 2000). A solubilidade de compostos fenólicos é governada pela polaridade do solvente utilizado, pelo grau de polimerização de compostos fenólicos, bem como pela interação destes compostos com outros constituintes alimentares e a formação de complexos insolúveis. Portanto, não há um procedimento completamente satisfatório ou que seja adequado para a extração de todos os compostos fenólicos ou uma classe específica de substâncias fenólicas em plantas (NACZK; SHAHIDI, 2004). A polaridade do solvente afeta a eficiência da extração dos diferentes compostos antioxidantes e a atividade dos extratos obtidos (PINELO et al., 2005; SHUI & LEONG, 2006; LAFKA et al., 2007).

O uso da água é uma boa escolha para a extração de compostos fenólicos devido à sua segurança, acessibilidade e baixo custo. Atualmente, tem-se avaliado a extração de fenólicos com água a 100°C (CAM; AABY, 2010), embora se deve notar que o uso de altas temperaturas acrescenta um custo significativo para a indústria (REIS et al., 2012). O pH da água pode determinar o grau de solubilidade dos compostos hidrossolúveis e também influenciar a solubilização da fração hidrolisável (LAFKA et al., 2007).

As condições ótimas de extração variam em função dos compostos ativos presentes, bem como do tipo de planta. Com relação ao tempo, períodos de extração variam geralmente de 1 minuto a 24 horas e sabe-se que tempos de extração mais longos aumentam a chance da ocorrência de oxidação dos compostos fenólicos, a menos que haja a adição de agentes redutores ao sistema (KHANNA et al., 1968; BURNS, 1971; MAXSON, ROONEY, 1972; PRICE; BUTLER, 1977; KROCKENBERGER, CORK, 1991). É importante considerar a estabilidade dos compostos fenólicos frente às condições de extração a que são submetidos, de modo a evitar sua degradação. Há a recomendação de que a temperatura de extração deve ser suficientemente elevada, a fim de minimizar a duração do processo. Os métodos convencionais são geralmente realizados à temperatura de refluxo de 90° C durante várias horas ou por maceração com solvente por dias em temperatura ambiente. Neste último caso, enzimas presentes nas

amostras, principalmente as oxidativas, são liberadas durante a extração e podem promover a reação de degradação (BIESAGA, 2011).

Assim, considerando a especificidade de cada matéria prima e dos compostos fenólicos presentes bem como as diversas variáveis que interferem na eficiência do processo de extração, torna-se importante a aplicação do planejamento fatorial. Esta ferramenta vem sendo muito usada para definir as condições de processo tendo em vista que permite observar, ao mesmo tempo, a influência de variáveis sobre uma resposta desejada, reduzindo o tempo e o número de experimentos, com uma boa confiabilidade nos resultados (RODRIGUES; LEMMA, 2009). Porém, para a extração de fenólicos a partir da combinação de resíduos agroindustriais seria indicado empregar planejamento experimental para misturas. Este planejamento é aplicado em experimentos em que dois ou mais componentes são misturados, e que a resposta dependerá somente das proporções dos componentes que irão formar a mistura e não da quantidade absoluta da mesma. Ao contrário dos experimentos fatoriais, em que as variáveis são independentes, nos experimentos com misturas os componentes representam proporções e, neste caso, não são independentes (REIS; ANDRADE, 1996).

Todas essas considerações apontam para a importância da utilização de compostos fenólicos dos resíduos de frutas como antioxidante natural, e que a mistura de resíduos pode ser interessante para se obter extratos com teor mais elevado de fenólicos. Assim, torna-se relevante definir as combinações de misturas que propicie a eficácia do processo bem como avaliar o potencial antioxidante dos extratos obtidos com misturas de resíduos agroindustriais, na perspectiva de empregá-los em alimentos.

4.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS, 2008. História da Laranja e Subprodutos da Laranja. Acesso em: www.abecitrus.com.br/ (acesso 02.01.14).

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIERREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v.152, n.1, p.46-55, 2014.

AJILA, C. M.; NAIDU, K. A.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, v. 105, p. 982-988, 2007.

ALVES, R.E.; DE BRITO, E. S.; RUFINO, M. S. M.; SAMPAIO, C. G. Antioxidant activity measurement in tropical fruits: a case study with acerola. **Acta Horticulturae**, v.773, p. 299-305, 2008.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.; ROBARDS, K.; RYAN, D. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. **The Analyst**, v.125, n.5, p.989-1009, 2000.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **The Analyst**, v.127, n.3, p.183-198, 2002.

ARVANITOYANNIS, I. S.; VARZAKAS, T. H. Fruit/Fruit Juice Waste Management: Treatment Methods and Potential Uses of Treated Waste Management for the Food Industries. **Food Science and Technology**, p. 569-628, 2008.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v.89, n.1, p.27-36, 2005.

AYALA-ZAVALA, J. F.; DEL-TORO-SÁNCHEZ, L.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZÁLEZ-AQUILAR, G. A. High relative humidity in-package of fresh-cut fruits and vegetables: Advantage or disadvantage considering microbiological problems and antimicrobial delivering systems? **Journal of Food Science**, v.73, n.4, p.41-47, 2008.

AYALA-ZAVALA, J. F.; VAGA-VAGA, V.; ROSAS-DOMÍNGUEZ, C.; PALAFOX-CARLOS, H.; VILLA-RODRIGUEZ, J. A.; WASIM SIDDIQUI, Md.; DÁVILA-AVIÑA, J. E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, p. 1866-1874, 2011b.

AZMIR, J. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v.117, p. 426-436, 2013.

BABBAR, N.; OBEROI, H. S.; SANDHU, S.K.; BHARGAV, V. K. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2568-2575, 2014.

- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v.99, p.191-203, 2006.
- BICAS, J. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v.44, n.7, p.1843-1855, 2011.
- BIESAGA, M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p.2505-2512, 2011.
- BIGLARI, F.; ALKARKHI, A.F.M.; EASA, A.M. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. **Food Chemistry**, v.107, n.4, p.1636-1641, 2008.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.
- BRASIL, 2010. Ministério do meio ambiente. Política Nacional de Resíduos Sólidos. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010.
- BURNS, R.E. Method for estimation of tannin in grain sorghum. **Agronomy Journal**, v.63, n.3, p.511-512, 1971.
- BONILLA, F.; MAYEN, M.; MERIDA, J. MEDINA, M. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. **Food Chemistry**, v.66, p.209-215, 1999.
- BOUAYED, J.; BOHN, T. Exogenous antioxidants - double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. **Oxid. Med. Cell. Longev**, v.3, p. 228-237, 2010.
- CABAGNA, M. C.; ATTADEMO, A. M.; BASSÓ, A. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.70, n. 1, p.185-197, 2008.
- CAM, M. & AABY, K. Optimization of extraction of apple pomace phenolics with water by response surface methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.16, p. 9103-9111, 2010.
- CASAZZA, A. A.; ALIAKBARIAN, B.; DE FAVERI, D. et al. Antioxidants from wine making wastes: a study on extraction parameters using response surface methodology. **Journal of Food Biochemistry**, v.36, p.28-37, 2012.
- CORNELL, J. A. **Experiments with mixtures - designs, models and the analysis of mixture data**, 2nd ed., John Wiley and Sons: New York, 1990.
- CORK, S. J.; KROCKENBERGER, A. K. **Journal of chemical ecology**, v.17, p.123, 1991.
- COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

CRUZ, J.M.; MOLDES, A.B.; BUSTOS, G.; TORRADO, A.; DOMÍNGUEZ, J.M. Integral utilization of barley husk for the production of food additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p.1000-1008, 2007.

DEVATKAL, S.K.; NAVEENA, B.M. Effect of salt, Kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. **Meat Science**, v.85, n.2, p. 306-311, 2010.

DJILAS, S. et al. By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, v.15, p. 191-202, 2009.

EDENHARDER, R.; GRUNHAGE, D. Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tertbutylhydroperoxide or cumene hydroxide in Salmonella typhimurium TA102. **Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v.540, p.1-18, 2003.

ESCRIBANO-BAILÓN, M.T.; SANTOS-BUELGA, C. Polyphenol extraction from foods. In: **Methods in Polyphenol Analysis**, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2003.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2009. FAOSTAT. <<http://faostat.fao.org/site/609/DesktopDefault.aspx?PageID=609#ancor>> Acesso em 24/11/2013.

FASSEAS, MK.; MOUNTZOURIS, K.C.; TARANTILIS, P.A.; POLISSIOU, M.; ZERVAS, G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. **Food Chemistry**, v.106, p.1188-1194, 2007.

FERREIRA, I.C.F.R.; BAPTISTA, P.; VILAS-BOAS, M.; BARROS, L. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. **Food Chemistry**, v.100, n.4, p.1511-1516, 2007.

GUERRA, N. B., LAJOLO, F. M. Ação Antioxidante de Especiarias Face Diferentes Atividades de Água. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 25, n.1, p.45-50, 2005.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.25, n.4, p.825-827, 2005.

GONZALEZ-AGUILAR, G.; VILLA-RODRIGUEZ, J. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; YAHIA, E. M. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some post harvest treatments. **Trends in Food Science and Technology**, v.21, p.475-482, 2010.

HAMMERSCHMIDT, P.A.; PRATT, D.E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of Food Science**, v.43, p. 556-559, 1978.

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

HUDSON, B.J.F., 1990. Food Antioxidants. Elsevier Science Publishers LTD.

IBRAF. Brazilian Institute of Fruits. Brazilian fruits in demand, 2009.

<http://www.ibraf.org.br/imprensa/0901_FrutasBrasileirasAscensao.asp> Acesso em 15/02/2014.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, n.126, p.1821-1835, 2011.

ISCI, A.; DEMIRER, G.N. Biogas production potential from cotton wastes. **Renewable Energy**, v.32, p.750-757, 2007.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; RINCÓN, M.; PULIDO, R.; SAURA-CALIXTO, F. Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 5489-5493, 2001.

KARPIŃSKA, M.; BOROWSKI, J.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chemistry**, v.72, n.1, p.5-9, 2001.

KHANNA, S. K.; VISWANATHAM, P.N.; KRISHNAN, P. S.; SANWAL, G. G. Extraction of total phenolics in the presence of reducing agents. **Phytochemistry**, v.7, p.1513-1517, 1968.

KIASSOS, E.; MYLONAKI, S.; MAKRIS, D.P.; KEFALAS, P. Implementation of response surface methodology to optimise extraction of onion (*Allium cepa*) solid waste phenolics. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.10, n.2, p.246-252, 2009.

LAFKA, T.I.; SINANOGLU, V.; LAZOS, E.S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, v. 104, n.3, p. 1206-1214, 2007.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, v.71, n.2, p.214–222, 2005.

LIAO, K.; YIN, M. Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems: importance of the partition coefficient. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.2266-2270, 2000.

MADHAVI, D.L.; DESPANDE, S.S.; SALUNKE, D.K. **Food Antioxidants**. Marcel Decker, New York, 1996.

MAISUTHISAKUL, P., SUTTAJIT, M., PONGSAWATMANIT, R.. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry**, v.100, n.4, p.1409-1418, 2007.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemist' Society**, v.45, p.594-598, 1968.

- MARTÍN, M.A.; SILES, J. A.; CHICA, A. F. MARTÍN, A. Biomethanization of orange peel waste. **Bioresource Technology**, v. 101, p.8993-8999, 2010.
- MAKRIS, D.P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N.K. Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. **Bioresource Technology**, v.98, p.2963-2967, 2007.
- MAKRIS, D.P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N.K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food composition and Analysis**, v. 20, n.2, p.125-132, 2007.
- MAXSON, E. D.; ROONEY, L. W. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. **Cereal Chemistry**, v.49, p.719-729, 1972.
- MILJKOVIC, D.; BIGNAMI, G. S. Nutraceuticals and methods of obtaining nutraceuticals from tropical crops. USA. Application number: 10/992.502. Published In. Google Patent, 2002.
- MOHDALY, A. A. A.; SARHAN, M. A.; MAHMOUD, A.; RAMADAN, M. F.; SMETANSKA, I. Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. **Food Chemistry**, v.123, n.4, p.1019-1026, 2010.
- MOO-HUCHIN, V.M.; MOO-HUCHIN, M. I.; ESTRADA-LEÓN, R. J.; CUEVAS-GLODY, L.; ESTRADA-MOTA, I. A.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E.; BETANCUR-ANCONA, D.; SAURI-DUCH, E. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**. v. 166, p. 17-22, 2015.
- MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.
- MOREIRA, A. V. B; MANCINI F. J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquosos e lipídicos. **Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition**, v.25, p.31-46, 2003.
- MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D. Natural antioxidants from residual sources. **Journal Food Chemistry**, v.72, p.145-171, 2001.
- MÜLLER, L.; GNOYKE, S.; POPKEN, A. M.; BÖHM, V. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. **LWT - Food Science and Technology**, v.43, p.992-999, 2010.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, n.1, p.95-111, 2004.
- OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v.115, p.469-475, 2009.

- PEARSON, A. M.; LOVE, J. D.; SHORLAND, F. B. 'Warmed-over' flavour in meat, poultry and fish. **Advances in Food Research**, v. 23, p.1-74, 1977.
- PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J. C.;
- PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M. FLÔRES, S. H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p.19-24, 2013.
- PÉREZ-ILZARBE, J.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I. Phenolic compounds in apples: varietal differences. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, v.192, n.6, p.551-554, 1991.
- PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v.97, n.1, p.137-150, 2006.
- PINELO, M.; FABBRO, P. D.; MANZOCCO, L.; NUÑEZ, M. J. NICOLI, M. C. Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* by products. **Food Chemistry**, v. 92, n.1, p.109-117, 2005.
- PINELO, M.; RUBILAR, M.; JEREZ, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. J. Effect of solvent, temperature, and solvent-to solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 6, p.2111-2117, 2005.
- PRICE, M.L.; BUTLER, L.G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum Grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.25, p.1268-1273,1977.
- PURAVANKARA, D.; BOGHRA, V.; SHARMA, R. S. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera Indica L.*) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.522-526, 2000.
- RATTANATHANALERK, M.; CHIEWCHAN, N.; SRICHUMPOUNG, W. Effects of thermalprocessing on the quality loss of pineapple juice. **Journal of Food Engineering**, v.66, n.2, p.259-265, 2005.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, n.9-10, p.1231-1237, 1999.
- REIS, C.; ANDRADE, J.C. Planejamento experimental para misturas usando cromatografia de papel. **Química Nova**, v.19, n.3, p.313-319, 1996.
- REIS, S. F.; RAI, D. K.; ABU-GHANNAM, N. Water at room temperature as a solvent for the extraction of apple pomace phenolic compounds. **Food Chemistry**,v.135, p.1991-1998, 2012.

- REIS, I.A.O.; SANTOS, S. B.; SANTOS, L. A.; OLIVEIRA, N.; FREIRE, M. G.; PEREIRA, J. F. B.; VENTURA, S. P. M.; COUTINHO, J. A. P.; SOARES, C. M. F.; LIMA, A. S. Increased significance of food wastes: Selective recovery of added-value compounds. **Food Chemistry**, v.135, p. 2453-2461, 2012.
- REZZADORI, K.; BENEDETTI, S.; AMANTE, E. R. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. **Food and Bioprocess Processing**, v.90, p.606-614, 2012.
- RIYA, M. P.; ANTU, K. A.; VINU, T.; CHANDRAKANTH, K. C.; ANILKUMAR, K. S.; RAGHU, K. G. An *in vitro* study reveals nutraceutical properties of *Ananas comosus* (L.) Merr. var. *Mauritius* fruit residue beneficial to diabetes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2013.
- RODRIGUES, M.I.; LEMMA, A.F. Planejamento de experimentos e otimização de processos. 2ª Ed. São Paulo: **Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor**, 2009.
- ROMAN, O.; MAILLARD, M.; PLESSIS, C.; RIQUET, A. Electron spin resonance spectroscopy: a promising method for studying lipid oxidation in foods. **Lipid Technology**, v.22, n.4, p.87-90, 2010.
- ROSSO, V. V. Bioactivities of Brazilian fruits and the antioxidant potential of tropical biomes. **Food and Public Health**, v. 3, p. 37-51, 2013.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, n.121, p.996-1022, 2010.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; FERNANDES, F. A. N.; BRITO, E. S. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**, v.44, p. 2072-2075, 2011.
- SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.; A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270-276, 1998.
- SHAN, B.; CAI, Y.Z.; SUN, M.; CORKE H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.2, p.7749-7759, 2005.
- SHAHIDI, F. Antioxidants in food and food antioxidants. **Nahrung**, v. 44, p. 158-163, 2000.
- SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Food Science and Nutrition**, v.32, p.67-103, 1992.
- SHUI, G. & LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 97, p.277-284, 2006.

- SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.143, p.398-404, 2014.
- SILVA, D. I. S.; NOGUEIRA, G. D. R.; DUZZIONI, A. G.; BARROZO, M. A. S. Changes of antioxidant constituents in pineapple (*Ananas comosus*) residue during drying process. **Industrial Crops and Products**, v.50, p.557- 562, 2013.
- SILVA, E.M.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v.55, n.3, p. 381-387, 2007.
- SIMÓN, B. F.; PÉREZ-ILZARBE, J.; HERNÁNDEZ, T.; GÓMEZ-CORDOVÉS, CARMEN.; ESTRELLA, I. **Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.40, p.1531-1535, 1992.
- SOTO, M. L.; MOURE, A.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. **Journal of Food Engineering**, v.105, p. 1-27, 2011.
- SPANOS, G.A.; WROLSTAD, R.E. Phenolics of apple, pear and white grape juice and their changes with processing and storage – a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.1478-1487, 1992.
- SUÁREZ, B.; ÁLVAREZ, A.L.; GARCÍA, Y.D.; BARRIO, G.; LOBO, A. P.; PARRA, F. Phenolic profiles, antioxidant activity and in vitro antiviral properties of apple pomace. **Food Chemistry**, v.120, n.1, p.339-342, 2010.
- SUN-WATERHOUSE, D. The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p.899-920, 2011.
- SUN-WATERHOUSE, D.; SIVAM, A. S.; COONEY, J.; ZHOU, J.; PERERA, C. O.; WATERHOUSE, G. I. N. Effects of added fruit polyphenols and pectin on the properties of finished breads revealed by HPLC/LC-MS and Size-Exclusion HPLC. **Food Research International**, v.44, n.9, p.3047-3056, 2011.
- TALCOTT, S. T.; PERCIVAL, S. S.; PITTET-MOORE, J.; CELORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.4, p.935-941, 2003.
- TOMÁS-BARBERAN, F. A.; FERRERES, F.; GIL, M. I. Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 23, p.739-795, 2000.
- UKSPIGNO, G.; DE FAVERI, D. M. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. **Journal of Food Engineering**, v.78, p.793-801, 2007.

VATAI, T.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v.90, n.2, p. 246-254, 2009.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v.71, p.195-198, 2000.

VIEIRA, F.G. K.; BORGES, G. S. C.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; NUNES, E. C.; FETT, R. Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 59, n.1, p.101-106, 2009.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1801-1812, 1999.

WILLIAMS, G. M.; IATROPOULOS, M. J.; WHYSNER, J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, p.1027-1038, 1999.

YANG, B.; JIANG, Y.; SHI, J.; CHEN, F.; ASHRAF, M. Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit-A review. **Food Research International**, v. 44, n.7, p.1837-1842, 2011.

5. CAPÍTULO I

ARTIGO

PLANEJAMENTO DE MISTURA SIMPLEX-CENTROIDE APLICADO AO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE FENÓLICOS A PARTIR DE FARINHAS DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

RESUMO

Considerando a produção excessiva de resíduos agroindustriais, materiais que ainda detêm compostos bioativos com propriedade antioxidante, este trabalho teve como objetivo avaliar o teor de fenólicos e o potencial antioxidante da mistura de farinhas dos resíduos de abacaxi, acerola e goiaba. Os resíduos, cedidos por uma indústria de polpa congelada de frutas, foram secos em estufa com circulação de ar a 40°C. Após a desidratação foram triturados e peneirados (16 mesh) para a obtenção de farinhas de granulometria uniforme que foram submetidas a determinação analítica para a quantificação do teor de umidade, proteína, lipídeos, resíduo mineral fixo (cinzas), e carboidratos totais. Em seguida, aplicando o planejamento experimental para misturas (simplex-centroide), os resíduos combinados em diferentes proporções foram adicionados ao etanol 60% e água e submetidos a agitação (400rpm), em temperatura de 60°C, por 30 min para a obtenção dos extratos hidroetanólico e aquoso, respectivamente, tendo como resposta a concentração de fenólicos e a capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos obtidos. Definidas as proporções dos resíduos que propiciaram a maior extração de fenólicos totais, os resíduos foram, também, submetidos à extração com metanol (60%) e com acetona (60%), nas mesmas condições. Nesses extratos foram quantificados os fenólicos totais e a capacidade de sequestrar o radical DPPH e radical ABTS. As farinhas dos resíduos apresentaram teor de umidade < 10 g 100g⁻¹, teores de cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos totais que variaram de 1,71 a 2,47 g 100g⁻¹; 0,78 a 0,95 g 100g⁻¹; 1,61 a 8,66 g 100g⁻¹ e 83,69 a 89,19 g 100g⁻¹, respectivamente. O planejamento de mistura demonstrou que, independente do solvente extrator, a maior quantidade de fenólicos pode ser extraída ao empregar 100% do resíduo de acerola; 50% de resíduo de acerola + 50% do resíduo de goiaba; 50% de resíduo de acerola + 50% do resíduo de abacaxi, e a mistura dos três resíduos em proporções iguais. Os extratos hidroetanólico apresentaram capacidade de sequestro do radical DPPH superior a 80% enquanto que os respectivos extratos aquosos alcançaram valor inferior a 65%. Maiores quantidades de fenólicos foram extraídas destas misturas empregando acetona 60%, entretanto, frente à necessidade da retirada do solvente, na perspectiva de emprega-lo em alimentos, observou-se que o processo de evaporação do solvente promoveu redução significativa no teor dos fenólicos extraídos. A capacidade antioxidante dos extratos destas misturas frente ao radical ABTS foi maior para o extrato hidroacetônico do resíduo de acerola (67,75 µM Trolox/g de farinha). Os extratos aquosos das misturas de farinhas dos resíduos de acerola e goiaba bem como o das misturas de acerola e abacaxi apresentaram uma correlação forte e positiva (r=0,9666 e r=0,9632, respectivamente) entre a concentração de fenólicos e a capacidade antioxidante dos extratos. Os resultados demonstraram a viabilidade de empregar misturas de resíduos e etanol 60% para extração de fenólicos com perspectivas de aplicá-los em alimentos.

Palavras chave: resíduos agroindustriais, compostos fenólicos, capacidade antioxidante, simplex-centroide, DPPH, ABTS.

ARTIGO

PLANNING SIMPLEX-CENTROID MIXING APPLIED TO PROCESS PHENOLICS EXTRACTION OF WASTE FLOUR FROM AGRO-INDUSTRIAL WASTE

ABSTRACT

Considering the excessive production of agro-industrial waste materials that still holds bioactive compounds with antioxidant properties, this study aimed to evaluate the phenolic content and the antioxidant potential of the mixture of flour of pineapple waste, acerola and guava. Waste, from a frozen fruit pulp industry, were dried in an oven with air circulation at 40°C. After dehydration were crushed and sieved (16 mesh) to obtain uniform particle size of meals were submitted to analytical determination to quantify the moisture content, protein, lipids, fixed mineral residue (ash), and total carbohydrates. Then, by applying to the experimental design mixtures (simplex centroid), residues combined in different proportions were added to 60% ethanol and water and subjected to shaking (400rpm) at a temperature of 60°C for 30 min to obtain extracts of hydroethanol and watery, respectively, and in response to concentration of phenolic and the scavenging capacity of DPPH radical of the extracts. Defined the proportions of the waste that results in the highest extraction of phenolic compounds, the residues were also subjected to extraction with methanol (60%) and acetone (60%) under the same conditions. In these extracts were quantified total phenolics and the ability to kidnap the DPPH and ABTS radicals. Flours waste presented moisture content <math><10 \text{ g } 100\text{g}^{-1}</math>, ash content, proteins, lipids and total carbohydrates ranging from 1,71 to 2,47 g 100g⁻¹; 0,78 to 0,95 g 100g⁻¹; From 1,61 to 8,66 g 100g⁻¹ and 100g 83,69 to 89,19 g⁻¹, respectively. The mixture of planning has shown that, regardless of the solvent extractor, the highest amount of phenolic can be extracted to use 100% of acerola residue; 50% acerola residue + 50% of guava residue; 50% acerola residue + 50% pineapple residue, and the mixture of the three residues in equal proportions. The hydroethanol extracts showed DPPH radical scavenging capacity greater than 80% while their aqueous extracts value reached less than 65%. Larger quantities of phenolic these mixtures were extracted using 60% acetone, however, due to the necessity of removal of the solvent, with a view to use it in food, it was observed that the solvent evaporation process caused a significant reduction in the content of the extracted phenolic. The antioxidant capacity of the extracts of these mixtures against the ABTS radical was higher for acetone extract with waste acerola (67,75 μM Trolox/g flour). The aqueous extracts of mixtures of flour waste acerola and guava as well as mixtures of acerola and pineapple showed a strong positive correlation ($r=0,9666$ and $r=0,9632$, respectively) between the concentration of phenolic and the ability antioxidant extracts. The results demonstrated the feasibility of using mixtures of waste and 60% ethanol for extraction of phenolic with prospects to apply them in food.

Keywords: agroindustrial waste, phenolic compounds, antioxidant capacity, simplex-centroid, DPPH, ABTS.

INTRODUÇÃO

Os resíduos agroindustriais de frutas (sementes, cascas e bagaços) que estão prontamente disponíveis ao final do processamento, podem ser utilizados não só nos países industrializados, mas também em países subdesenvolvidos para a reutilização da fração orgânica dos resíduos em diversas formas rentáveis para fins energéticos e extração de antioxidantes, por exemplo, com uma série de processos estudados e implementados para este fim (CHANAKYA et al., 2009; KHOO, 2009). Na maioria das vezes, a prática mais comum é a queima a céu aberto, em especial para resíduos agrícolas, que são gerados em grandes volumes de sazonalidade. Além da perda do potencial de recuperação de um recurso local, resulta também em um enorme impacto sobre o meio ambiente, gerando emissões não controladas (VITALI et al., 2013).

A valorização dos subprodutos e resíduos agrícolas para fins alimentícios é um campo desafiador de pesquisa de grande importância para a economia local e internacional (GALANAKIS, 2012). Neste sentido, a implementação de processos para a extração de compostos antioxidantes a partir desse subproduto da agroindústria é uma alternativa de gestão dos resíduos agroindustriais, minimizando a poluição ambiental e agregando valor a este material (ABECITRUS, 2008; REZZADORI, et. al, 2012), uma vez que muitas cascas e sementes de frutas têm alto teor de fenólicos, compostos estes com propriedades antioxidantes (PURAVANKARA et al., 2000).

A extração de compostos bioativos é uma etapa importante que consiste na liberação dos fenólicos das estruturas vacuolares onde eles se encontram, quer pela ruptura do tecido da planta ou por um processo de difusão (ESCRIBANO-BAILÓN; SANTOS-BUELGA, 2003; IGNAT; VOLF; POPA, 2011). A hidrodestilação ou extração por solvente é o método tradicional para a extração de compostos fenólicos a partir de subprodutos vegetais (CASAZZA et al., 2012). Diferentes solventes, como metanol, etanol, acetona ou combinações destes com água, acetato de etila e também por meio da destilação a vapor têm sido geralmente utilizados (PÉREZ-ILZARBE et al, 1991; SIMÓN DE SIMÓN et al., 1992; SHAHIDI, 2000). É importante considerar a estabilidade dos compostos fenólicos frente às condições de extração a que são submetidos, de modo a evitar sua degradação (BIESAGA, 2011).

Os resíduos de diferentes frutas apresentam em sua constituição tipos e teores variados de compostos fenólicos, que muitas vezes influenciam na ação antioxidante do extrato obtido, portanto, a combinação de resíduos de várias frutas pode ser interessante para se obter extratos ricos nestes fitoquímicos. Neste sentido, torna-se adequado

empregar o planejamento experimental para misturas de modo a definir as proporções dos resíduos que devem conter na mistura a ser submetida ao processo de extração. Este planejamento é aplicado em experimentos em que dois ou mais componentes são misturados, e que a resposta dependerá somente das proporções dos componentes que irão formar a mistura e não da quantidade absoluta da mesma. Ao contrário dos experimentos fatoriais, em que as variáveis são independentes, nos experimentos com misturas, os componentes representam proporções e, neste caso, não são independentes (REIS; ANDRADE, 1996).

Os resíduos agroindustriais apresentam-se, portanto, como uma alternativa, cada vez mais atraente, para a extração de antioxidante natural, provavelmente mais seguro do que os sintéticos cuja inocuidade vem sendo questionada (WILLIAMS; IATROPOULOS; WHYSNER, 1999; BONILLA et al., 1999). Ademais, nos últimos anos, os consumidores, cada vez mais preocupados com a saúde, buscam por produtos mais naturais e livres de aditivos (DEVATKAL, NAVEENA, 2010; FASSEAS et al. 2007). Dentro deste contexto, os resíduos agroindustriais, como fonte de antioxidante natural, representam valioso potencial de aplicação na indústria de alimentos (PUUPPONEN-PIMIA et al., 2001; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006), por conterem teores significantes de compostos biologicamente ativos que exibem propriedade antioxidante (SPIGNO; DE FAVERI, 2007; BABBAR et al., 2014).

Assim, frente a estas constatações, este trabalho teve como objetivos avaliar o potencial antioxidante da mistura de farinhas elaboradas a partir dos resíduos de abacaxi, acerola e goiaba em proporções a serem definidas pelo planejamento experimental de mistura simplex-centroide.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção das farinhas dos resíduos

Os resíduos de abacaxi (*Ananas comosus*), acerola (*Malpighia puniceifolia L.*) e goiaba (*Psidium guajava L.*) foram coletados diretamente na linha de produção de uma agroindústria processadora de polpa congelada de frutas, localizada na cidade de Recife-PE. Estes resíduos foram secos em estufa com circulação de ar (MA035- MARCONI) a 40°C até atingir umidade inferior a 10%. Em seguida, foram triturados em moinho multi-uso (TE-631/2 - TECNAL) e peneirados (16 mesh) para obtenção de farinhas com

granulometria uniforme. As farinhas obtidas foram acondicionadas separadamente em sacos de polietileno e armazenadas em temperatura de -22°C (Figura 1).

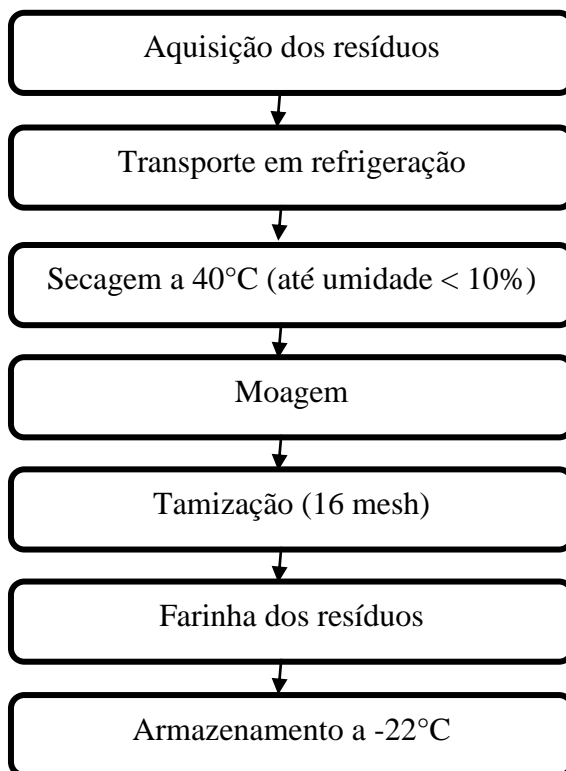


Figura 1. Fluxograma da obtenção das farinhas dos resíduos agroindustriais de acerola, abacaxi e goiaba.

O processamento dos resíduos para obtenção das farinhas, bem como as determinações analíticas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Ciências Domésticas da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Caracterização química das farinhas

As farinhas dos resíduos de abacaxi, acerola e goiaba foram submetidas às determinações de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos segundo o método da AOAC (2005). Carboidratos totais foram calculados por diferença e os resultados expressos em $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ (ASCAR, 1985). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

Delineamento experimental de misturas e obtenção dos extratos

Para selecionar as proporções das farinhas dos resíduos que devem compor as misturas a serem submetidas à extração dos fenólicos, em água e em etanol a 60%, tornou-se necessária a aplicação do planejamento experimental de mistura simplex-

centroide. Experimentos com misturas são aqueles em que as propriedades estudadas dependem da proporção dos componentes, mas não da quantidade de cada componente da mistura (SHEFFE, 1958). Para uma mistura com 3 componentes recomenda-se utilizar o delineamento simplex-centroide (HARE, 1974), cuja configuração espacial determinada por um número de pontos, com um ponto a mais do que o número de dimensões do espaço (CROSIER, 1984). Assim, em uma mistura com 3 componentes ($q=3$), como é o caso em estudo, o espaço simplex é um triângulo equilátero, onde os vértices da região viável representam misturas puras (um só componente), as arestas são misturas binárias, e o interior da região são misturas completas (contendo todos os ingredientes). Desta forma, o planejamento simplex-centroide das misturas dos resíduos de abacaxi, acerola e goiaba pode ser representado na Figura 2.

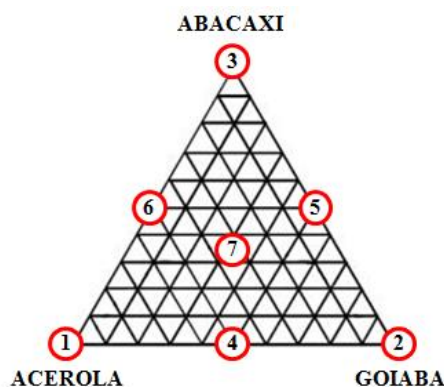


Figura 2. Distribuição dos pontos experimentais (misturas) em um *simplex* para 3 componentes (resíduo de abacaxi, acerola e goiaba).

Onde, 1=acerola, 2= goiaba, 3= abacaxi, 4= acerola+goiaba, 5= abacaxi+goiaba, 6= Acerola+abacaxi e 7= acerola+abacaxi+goiaba.

As proporções dos diversos componentes de uma mistura qualquer não são independentes, obedecem a seguinte equação:

$$\sum_{i=1}^q x_i = q_1 + q_2 + q_3 = \mathbf{100\%}$$

Onde q é o número de componentes, variáveis ou fatores na mistura. Onde X_i representa a proporção do i -ésimo componente (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010). Assim, quando a proporção de um componente é alterada, ocorre alteração também com os outros componentes, uma vez que a soma das proporções dos diversos componentes de uma mistura é sempre 100%. Por este motivo, delineamentos experimentais convencionais não podem ser aplicados a misturas, pois nestes as variáveis são independentes umas das outras (MONTGOMERY; VOTH, 1994; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 1995).

O experimento foi constituído por 9 ensaios com duas repetições do ponto central, referente ao planeamento simplex-centroide com 3 componentes (farinha dos resíduos de acerola, abacaxi e goiaba) cujas proporções das farinhas empregadas nos ensaios encontram-se na Tabela 1. As variáveis respostas referem-se à concentração de fenólicos totais e a capacidade antioxidante dos extratos.

Tabela 1. Matriz da Composição das misturas de farinhas de resíduos agroindustriais definida no planeamento experimental de mistura simplex-centroide.

Ensaio	Proporções das farinhas dos resíduos agroindustriais					
	Valores codificados			Valores decodificados (%)		
	Acerola	Goiaba	Abacaxi	Acerola	Goiaba	Abacaxi
1	1	0	0	100	0	0
2	0	1	0	0	100	0
3	0	0	1	0	0	100
4	1/2	1/2	0	50	50	0
5	0	1/2	1/2	0	50	50
6	1/2	0	1/2	50	0	50
7	1/3	1/3	1/3	33,33	33,33	33,33
8	1/3	1/3	1/3	33,33	33,33	33,33
9	1/3	1/3	1/3	33,33	33,33	33,33

Cada ensaio foi submetido a dois processos de extração, um utilizando etanol a 60% e o outro água como solventes extratores, ambos aquecidos até 60°C, de modo a obter extratos hidroetanólicos e extratos aquosos, respectivamente. A velocidade de agitação e o tempo de extração do processo foram fixados em 400 rpm e 30 min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4000rpm, por 10 minutos, e no sobrenadante obtido foi determinado o teor de fenólicos totais e a capacidade de sequestrar o radical DPPH, como segue:

- a) Os fenólicos totais dos extratos foram mensurados por método espectrofotométrico com espectro de absorção registrado no comprimento de onda de 725nm, utilizando o reagente Folin-Ciocalteau (Merck), segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999) e curva padrão de ácido gálico (10 a 120µg/mL, com $R^2 = 0,9997$). Os resultados foram expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de farinha.
- b) A capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH) foi determinada segundo o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998). Os resultados foram expressos em percentual de sequestro.

Com a ferramenta de planejamento experimental de mistura simplex-centroide, onde os componentes aparecem em iguais proporções, é possível obter modelos linear, quadrático e cúbico para explicar as propriedades do sistema de misturas (REIS; ANDRADE, 1996).

Os ensaios que obtiveram as melhores respostas foram repetidos, nas mesmas condições, empregando metanol (60%) e acetona (60%) como solventes e extratos obtidos submetidos à determinação do teor de fenólicos totais e da capacidade de sequestrar o radical DPPH.

Ensaio antioxidante

Os extratos dos ensaios que apresentaram as melhores respostas foram submetidos aos seguintes ensaios antioxidantes:

Capacidade de Sequestrar o radical 1,1-difenil-2 picrilhidrazina (DPPH): segundo o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998), e os resultados expressos em percentual de sequestro. Para verificar a existência de correlação entre o teor de fenólicos e o percentual de sequestro, extratos com diferentes concentrações de fenólicos totais foram adicionados à solução de DPPH• em metanol (0,1M), atingindo a concentração final de fenólicos totais de 20, 40 e 60 µg/mL e a absorbância a 515 nm foi registrada, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) segundo Brand-Williams et al (1995), modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998).

Capacidade de sequestrar o radical ABTS (2,2'-azino-bis- (3 etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico): Determinada segundo o método descrito por RE et al. (1999). O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS (7 mM) com 2,45 mM de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16h. Em seguida, a solução do radical foi diluída em etanol até obter uma medida de absorbância de $0,7 \pm 0,05$, em comprimento de onda de 734 nm. Os extratos com diferentes concentrações de fenólicos totais (0,5; 1,0 e 1,5 µg/mL), em triplicata, foram adicionadas a solução do ABTS^{•+} e a absorbância medida, após 6 minutos, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) a 734 nm. A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação a atividade do antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, utilizando uma curva de calibração de Trolox (100-1300µM, com $R=0,9953$), e os

resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ de resíduo seco).

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software Statistica 6.0. Valores foram expressos em média \pm desvio padrão. O teste t de Student e teste de Duncan foram aplicados para comparação das médias, diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$. A correlação entre a concentração de fenólicos e a capacidade antioxidante foi determinada utilizando a correlação de Pearson. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Caracterização química das farinhas

Os resíduos de acerola, abacaxi e goiaba (Figura 2A, 2B e 2C, respectivamente) após processamento deram origem a farinhas de granulometria uniforme e de aparência agradável (Figura 3). A desidratação foi aplicada aos resíduos com o fim de propiciar maior estabilidade ao produto, uma vez que baixo teor de umidade favorece a conservação do material tendo em vista que as reações químicas, microbiológicas e bioquímicas são interrompidas ou têm sua velocidade reduzida. Além disso, na perspectiva industrial, o processo de secagem é econômico, pois não necessita de equipamentos sofisticados nem de mão de obra especializada, e o produto desidratado tem baixo custo de armazenamento, aliado ao fato de ser de fácil transporte e comercialização. Técnicas de secagem de alimentos têm sido muito utilizadas para estender a vida de prateleira e para a formulação de novos produtos (CORREIA et al., 2011). Além do que, a indústria de alimentos desidratados alcançou um lugar importante entre as indústrias de alimentos em geral (VEGA-GALVEZ et al., 2012), devido a praticidade no uso destes alimentos.



Figura 3. Aspecto visual dos resíduos agroindustriais *in natura* de acerola (A), abacaxi (B) e goiaba (C) antes de serem submetidos a secagem.



Figura 4. Farinhas dos resíduos de acerola (A), abacaxi (B) e goiaba (C) com granulometria de 16 mesh.

Independente do fruto, as farinhas dos resíduos apresentaram coloração marrom. A cor observada pode ser decorrente de escurecimento enzimático, tendo em vista que os resíduos não foram branqueados nem pasteurizados, e a temperatura utilizada na secagem (40°C), possivelmente, não foi suficiente para inativar enzimas uma vez que a polifenoloxidase é inativada em 70 a 90°C. Por outro lado, considerando que em frutas é usual a presença de glicose e frutose em sua composição, a ocorrência de escurecimento não enzimático que também explicaria a coloração das farinhas dos resíduos, não pode ser descartada.

As farinhas dos resíduos apresentaram baixo teor de umidade, de resíduo mineral fixo (cinzas), proteína e lipídeos e elevado teor de carboidratos totais (Tabela 2). Com relação à umidade, o teor atingido atendeu ao parâmetro estabelecido neste estudo (<10%), embora, observa-se diferença estatística entre as farinhas dos resíduos. O teor de umidade das farinhas de abacaxi e de goiaba foi menor do que a da farinha de acerola ($p < 0,05$). Martínez et al., (2012) secaram resíduos de abacaxi (cascas e centros) e goiaba (casca, polpa e semente) a 60°C por 12 horas os quais atingiram valores de umidade de $9,3 \pm 0,06$ e $9,3 \pm 0,03$ g/100g, respectivamente.

Tabela 2. Composição química das farinhas dos resíduos agroindustriais.

Constituintes	Abacaxi	Acerola	Goiaba
Umidade e Substâncias Voláteis (g 100g ⁻¹)	6,72±0,34 ^b	7,84 ± 0,13 ^a	6,75 ± 0,08 ^b
Resíduo mineral fixo (g 100g ⁻¹)	1,71±0,04 ^c	2,32±0,01 ^b	2,47±0,01 ^a
Proteínas (g 100g ⁻¹)	0,78±0,10 ^c	0,97 ± 0,02 ^a	0,90 ± 0,01 ^b
Lipídeos (g 100g ⁻¹)	1,61±0,36 ^c	6,78 ± 0,68 ^b	8,66 ± 0,42 ^a
Carboidratos totais (g 100g ⁻¹)	89,18±3,24 ^a	82,09 ± 0,55 ^b	81,22 ± 0,50 ^b

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Segundo Gondim et al. (2005), os frutos são considerados as principais fontes de minerais da dieta humana, componente que se encontra em maior quantidade nas cascas e sementes do que nas polpas. Os resíduos minerais fixos correspondem à fração inorgânica ou mineral dos alimentos (SHILS et al., 1994). O teor destes constituintes na farinha do resíduo de abacaxi foi menos expressivo ($1,71 \pm 0,04 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) do que os da farinha de acerola e de goiaba ($2,31 \pm 0,01$ e $2,47 \pm 0,01 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ respectivamente). Em frutos de acerola, em diferentes estágios de maturação, o teor dos resíduos minerais fixos detectados por Vendramini e Trugo (2000) foi de $0,4 \text{ g}/100\text{g}$, bem inferior ao encontrado neste estudo para o resíduo de acerola.

Nos frutos as proteínas se encontram em baixa concentração, entretanto, a casca é a fração com maior teor, em geral em torno de 1% de proteína (GONDIM et al., 2005). Nas farinhas dos resíduos em estudo os valores foram próximos a este. A farinha do resíduo de abacaxi ($0,78 \pm 0,10 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) apresentou teor de proteína estatisticamente inferior ao da acerola ($0,95 \pm 0,00 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) e ao da goiaba ($0,89 \pm 0,00 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$). No entanto, diferentes valores foram reportados por Martínez et al. (2012) para o resíduo de abacaxi ($4,0 \pm 0,17 \text{ g}/100\text{g}$) e de goiaba ($4,8 \pm 0,10 \text{ g}/100\text{g}$). Vendramini e Trugo (2000) encontraram valores de proteína de $0,9 \text{ g}/100\text{g}$ em frutos de acerola em estágio maduro, teor bastante superior ao encontrado no resíduo desidratado, se for considerado o teor de umidade do fruto fresco.

O extrato etéreo inclui, além das gorduras, substâncias solúveis no solvente extrator empregado na determinação (éter etílico), como os ácidos graxos livres, os mono, di e triacilglicerídeos, alguns pigmentos lipossolúveis, ceras, resinas, glicolipídeos e algumas vitaminas. Nos frutos, os maiores teores de lipídeos são encontrados nas cascas e sementes (CECCHI, 2001). No que concerne aos lipídeos dos resíduos deste estudo, os da farinha de goiaba ($8,66 \pm 0,41 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) foram superiores aos da acerola ($6,78 \pm 0,67 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) e do abacaxi ($1,61 \pm 0,36 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$), ($p < 0,05$).

Assim como acontece com os demais componentes químicos, variações nas concentrações de carboidratos de fruta e também de seus resíduos agroindustriais podem ser atribuídas a diferenças de cultivar, colheita/fatores de pós-colheita e fatores de crescimento ligados ao ambiente como temperatura, umidade, uso de fertilizantes, etc (SAFFI et al., 2008; ALI et al., 2009; BORCHANI et al., 2010; HASNAOUI et al., 2011). Do mesmo modo que as frutas secas, os resíduos ao serem submetidos ao processo de secagem apresentam maior densidade total de energia, de nutrientes e de fibra alimentar, entre outros constituintes (BENNETT et al., 2011). Fato este que pode explicar as diferenças de valores de carboidratos totais encontrados nos três resíduos.

Na Tabela 3 encontram-se os teores de compostos fenólicos totais que foram extraídos com etanol a 60% e água, e a respectiva capacidade antioxidante dos extratos. Os ensaios contendo 100% do resíduo de acerola, bem como aqueles contendo misturas desse resíduo (50%) com o resíduo de abacaxi (50%) ou com o de goiaba (50%), bem como com as misturas dos três resíduos em proporções iguais, propiciaram uma maior extração de fenólicos. Observa-se, ainda, que o solvente etanol 60% extraiu maior quantidade de compostos fenólicos do que a água. Provavelmente, a reduzida eficiência da água pura como solvente extrator decorre do fato dos compostos fenólicos serem geralmente mais solúveis em solventes orgânicos menos polares do que a água (KIM, LEE, 2002). Outro fator que poderia estar influenciando na menor extração dos compostos fenólicos pela água, é a possível oxidação de compostos fenólicos pela enzima polifenol oxidase, tendo em vista que essa enzima não é inativada em extratos aquosos aquecidos a 60°C, ao contrário do que acontece em solventes orgânicos, como metanol, etanol e acetona (GONZÁLEZ-MONTELONGO, et al. 2010). Kumar et al. (2008) relatam que a polifenol oxidase presente em acerolas perde a estabilidade em temperaturas superiores a 75° C. Mercali et al. (2012) afirmam que o tratamento térmico a 85 °C, durante 3 minutos, reduz a atividade da enzima a valores próximos de 10%. No entanto, apesar da água não ter sido melhor solvente extrator do que o etanol 60%, a sua utilização é uma boa escolha para a extração de compostos fenólicos devido à sua segurança, acessibilidade, baixo custo e por ser ambientalmente amigável, tornando-se um solvente ideal para a extração destes fitoquímicos (REIS; RAI; ABU-GHANNAM, 2012).

Tabela 3. Teor de fenólicos e capacidade de sequestro do radical DPPH de extratos hidroetanólicos e aquosos obtidos a partir de misturas de farinhas de resíduos agroindustriais definidas no planejamento experimental de mistura simplex-centroide.

Ensaio	Valores codificados e reais			Fenólicos totais* (mg/100g de farinha)		Capacidade Antioxidante (%)	
	Acerola	Goiaba	Abacaxi	Extrato hidroetanólico	Extrato aquoso	Extrato hidroetanólico	Extrato aquoso
1	1(100% **)	0 (0%)	0(0%)	3184,55	2233,60	91,75	63,89
2	0 (0%)	1(100%)	0(0%)	964,40	357,30	81,38	30,23
3	0 (0%)	0 (0%)	1(100%)	577,60	648,12	23,89	27,28
4	1/2(50%)	1/2(50%)	0(0%)	2070,15	1531,17	80,60	59,70
5	0 (0%)	1/2(50%)	1/2(50%)	784,77	481,0	54,43	24,86
6	1/2(50%)	0(0%)	1/2(50%)	2425,10	1686,07	90,00	48,93
7	1/3(33,3%)	1/3(33,3%)	1/3(33,3%)	1788,90	1238,63	82,73	43,19
8	1/3(33,3%)	1/3(33,3%)	1/3(33,3%)	2082,73	1040,04	87,88	37,80
9	1/3(33,3%)	1/3(33,3%)	1/3(33,3%)	2252,14	1032,27	85,83	56,89

Ensaio: 1=acerola, 2= goiaba, 3= abacaxi, 4= acerola+goiaba, 5= abacaxi+goiaba, 6= acerola+abacaxi e 7= acerola+abacaxi+goiaba.

*Fenólicos expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100g de farinha

**Onde: 100% correspon a 4 g de farinha. Todos os ensaios foram realizados com 100 ml de solvente.

Compostos polifenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) são os principais fitoquímicos responsáveis pela capacidade antioxidante de vegetais (MARTÍNEZ et al., 2012), neutralizando a reatividade dos radicais livres pela doação de um átomo de hidrogênio (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992). Neste estudo, observa-se que o maior percentual de sequestro do radical DPPH foi alcançado com o extrato hidroetanólico da farinha do resíduo de acerola (91,75%), entretanto, as misturas das farinhas de acerola e abacaxi e a misturas das três farinhas dos resíduos, apresentaram valores bastante expressivos (90,00 e 82,73-87,88%, respectivamente). Com relação a capacidade antioxidante dos extratos aquosos, observa-se que os maiores percentuais de sequestro foram obtidos com o extrato aquoso da farinha de acerola (63,89%), seguida do extrato da mistura de acerola e goiaba (59,70%), acerola e abacaxi (48,93%) e da mistura das três farinhas dos resíduos (37,80-56,89%).

Alothman et al. (2009) ao avaliarem a capacidade antioxidante de extratos etanólicos das frutas abacaxi e goiaba, obtidos empregando no processo de extração solventes nas concentrações de 50, 70 e 90%, agitação a 1100 rpm, durante 3 horas, em temperatura ambiente, evidenciaram que os extratos de abacaxi apresentaram, respectivamente, $90,8 \pm 0,56\%$; $87,5 \pm 0,74\%$; e $78,9 \pm 1,01\%$ de sequestro do radical DPPH, enquanto que os de goiaba a ação foi de $86,9 \pm 4,85\%$, $84 \pm 3,04\%$ e $81,9 \pm 1,65\%$, respectivamente. Observa-se que os extratos hidroetanólicos do resíduo de abacaxi obtidos tanto com a farinha do resíduo puro como em mistura com os de goiaba exibiram os menores percentuais da capacidade antioxidante (23,89 e 54,43%). No entanto, ao misturá-lo com o resíduo de acerola, o extrato obtido passou a apresentar 90% de capacidade de sequestro do radical DPPH, (Tabela 3). Evidencia-se, com estes resultados, que a capacidade antioxidante foi fortemente influenciada pelos fenólicos extraídos do resíduo de acerola.

Segundo vários autores, as propriedades químicas, bem como o perfil dos fenólicos presentes nos frutos e, conseqüentemente, a sua propriedade antioxidante são influenciadas pela cultivar, região de cultivo e grau de maturidade dos frutos na colheita, entre outros fatores (BEN-ARIE et al., 1984; GIL et al., 1995; MELGAREJO et al., 2000; POYRAZOGLU et al., 2002; AL-MAIMAN; AHMAD, 2002; MIRDEHGHAN, RAHEMI, 2007). Fawole et al. (2013), ao avaliarem romãs em distintos graus de maturação encontraram diferenças significativas na quantidade de açúcares, ácido ascórbico e antocianinas, enquanto houve declínios significativos nos níveis de ácidos orgânicos, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante durante o desenvolvimento e maturação dos frutos. Hassimotto et al. (2005) sugeriram

que a atividade antioxidante é resultado de uma combinação de diferentes compostos com possíveis efeitos sinérgicos ou antagônicos. As frutas possuem muitos compostos que apresentam funcionalidade antioxidante (GUO et al., 2003). As relações entre esses compostos e a atividade antioxidante são difíceis de explicar a partir de uma análise quantitativa, tendo em vista que não é apenas a quantidade dos compostos antioxidantes, mas também as interações que ocorrem entre estes e os outros constituintes que podem influenciar na ação antioxidante (ZAPOROZHETS et al, 2004). Portanto, as misturas das farinhas dos resíduos poderá proporcionar esta interação, tornando importante averiguar a melhor composição da mistura de resíduo de modo a se obter extratos com elevada ação antioxidante.

Para ambos solventes, observa-se que o modelo que mais se ajustou para a extração de compostos fenólicos das amostras e para a capacidade antioxidante do extrato etanólico foi o modelo cúbico (Tabelas 4 e 5), enquanto que para a capacidade antioxidante do extrato aquoso, o modelo que expressou o melhor ajuste foi o quadrático, com 80% de variação explicada pelo modelo (Tabela 5). A análise dos dados referentes ao modelo cúbico para os fenólicos extraídos com etanol 60% e água, revela que os valores das respostas relativos ao teor de fenólicos extraídos nos ensaios 4, 5 e 7 do extrato etanólico e no ensaio 5 do extrato aquoso não foram estatisticamente significativos ($p > 0,05$) (Tabela 4 e 5).

Tabela 4. Coeficientes de resposta para fenólicos e DPPH nos modelos linear, quadrático e cúbico para a extração com etanol 60% aquecido a 60°C.

Etanol 60% a 60°C												
Ensaio	Fenólicos*						Atividade Antioxidante**					
	Linear	P	Quadrático	p	Cúbico	p	Linear	p	Quadrático	p	Cúbico	p
1	3487,92	< 0,05	3193,10	< 0,05	3215,02	< 0,05	91,75	< 0,05	90,90	< 0,05	91,75	< 0,05
2	1014,55	< 0,05	940,62	< 0,05	962,52	< 0,05	81,96	< 0,05	80,53	< 0,05	81,38	< 0,05
3	883,50	< 0,05	571,02	< 0,05	592,92	< 0,05	39,73	< 0,05	23,04	< 0,05	23,89	< 0,05
4			313,65	> 0,05	-124,52	> 0,05			- 6,89	> 0,05	-23,87	< 0,05
5			490,42	> 0,05	52,25	> 0,05			24,15	< 0,05	7,18	> 0,05
6			2699,30	< 0,05	2261,12	< 0,05			145,70	< 0,05	128,73	< 0,05
7					5126,92	> 0,05					198,61	< 0,05

*R² ajustado dos fenólicos expressos em mg/100g de matéria seca de equivalentes de ácido gálico: 0,89; 0,96 e 0,97 para os ensaios linear, quadrático e cúbico, respectivamente. **R² ajustado para a atividade antioxidante em % de sequestro do radical DPPH (5 minutos): 0,64; 0,97 e 0,99 para os ensaios linear, quadrático e cúbico, respectivamente.

Tabela 5. Coeficientes de resposta para fenólicos e DPPH nos modelos linear, quadrático e cúbico para a extração com água aquecida a 60°C.

Água a 60°C												
Ensaio	Fenólicos*						Atividade Antioxidante**					
	Linear	P	Quadrático	p	Cúbico	p	Linear	p	Quadrático	p	Cúbico	p
1	2383,65	< 0,05	2282,65	< 0,05	2262,77	< 0,05	70,23	< 0,05	63,88	< 0,05	63,89	< 0,05
2	365,80	< 0,05	381,85	< 0,05	361,97	< 0,05	33,68	< 0,05	30,22	< 0,05	30,23	< 0,05
3	698,35	< 0,05	684,10	< 0,05	664,22	< 0,05	27,01	< 0,05	27,26	< 0,05	27,28	< 0,05
4			358,22	> 0,05	756,20	< 0,05			50,82	< 0,05	50,56	> 0,05
5			-509,32	> 0,05	-111,37	> 0,05			-15,30	> 0,05	-15,57	> 0,05
6			661,15	> 0,05	1059,12	< 0,05			13,65	> 0,05	13,39	> 0,05
7					-4656,10	< 0,05					3,13	> 0,05

*R² ajustado dos fenólicos expressos em mg/100g de matéria seca de equivalentes de ácido gálico: 0,95; 0,96 e 0,97 para os ensaios linear, quadrático e cúbico, respectivamente. **R² ajustado para atividade antioxidante em % de sequestro do radical DPPH (5 minutos): 0,73; 0,80 e 0,78 para os ensaios linear, quadrático e cúbico, respectivamente.

A análise da superfície de resposta é uma coleção de técnicas matemáticas e estatísticas (BOX; DRAPER, 1987), tendo como objetivo neste trabalho determinar o ajuste das condições operacionais de composições das misturas que otimizam a resposta do sistema para a extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante expressivas.

O gráfico é representado por suas curvas de nível, onde as curvas para as misturas binárias são retas, mostrando como a resposta para elas varia linearmente com as proporções dos dois componentes envolvidos. Para as misturas ternárias, que correspondem a pontos no interior do triângulo, a resposta passa a ser a soma das contribuições lineares devidas aos componentes puros com as contribuições das misturas binárias (NETO, 2010). Essas curvas representam a previsão da variável de resposta para as várias combinações dos componentes da mistura (CALADO, 2005). A legenda das cores, indica que a região em vermelho é a região otimizada para extração de fenólicos e mais expressiva para a capacidade antioxidante de acordo com o gráfico.

As Figuras 5 e 6 apresentam os gráficos de superfície de resposta para os três modelos com o solvente extrator etanol 60% e Figuras 7 e 8 para o ensaio empregando água como solvente extrator. No modelo linear para a extração dos fenólicos com os solventes etanol 60% e água (Figura 5a e 7a), verifica-se que o extrato do resíduo de acerola apresenta o maior teor destes compostos. No modelo quadrático para os dois solventes, observa-se que as misturas binárias entre os resíduos de acerola e goiaba bem como acerola e abacaxi (Figuras 5b e 7b) não apresentam valores acumulativos, o fato de ocorrer a mistura binárias entre a acerola que apresenta os melhores valores de fenólicos e os outros resíduos diminuiria a expressão dos compostos fenólicos, fato observado com os dois solventes extratores.

O modelo cúbico foi o que melhor se ajustou a extração de fenólicos ($R^2=0,97$) e a capacidade antioxidante ($R^2=0,99$) empregando etanol 60% como solvente extrator, porém com a água como solvente, esse modelo ajustou-se apenas a extração de fenólicos ($R^2=0,97$). No entanto, a capacidade antioxidante do extrato aquoso ajustou-se ao modelo quadrático ($R^2=0,80$). Observa-se que a região em que a extração dos fenólicos foi mais expressiva corresponde a mistura da farinha de acerola e abacaxi, bem como, a mistura das três farinhas de resíduos empregando etanol 60% como solvente extrator, representada pelo ponto central do gráfico de superfície de resposta (Figura 5c). Quando se usa a água como solvente extrator, evidencia-se que a região menos expressiva corresponde aquela da mistura da farinha de acerola com a de abacaxi, enquanto que a mistura das três farinhas se revela insatisfatória (Figura 7c).

Com a modelagem da superfície de resposta é possível obter as predições para quaisquer composições das misturas (CORNELL, 1990). Assim, para o solvente extrator etanol 60%, no gráfico de superfície de resposta para o modelo cúbico ($R^2=0,99$) (Figura 6c), observa-se que existem melhores respostas para a capacidade antioxidante em misturas binárias entre a acerola e o abacaxi; acerola com a goiaba e em misturas ternárias envolvendo as três farinhas dos resíduos. Enquanto que com a água como extrator, o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou ($R^2=0,80$), evidenciando capacidade antioxidante expressivas com as misturas binárias de acerola e goiaba (Figura 8b)

O resíduo de acerola influenciou tanto na extração de fenólicos como na capacidade antioxidante nos dois solventes quando comparado com os outros dois resíduos. Assim, a região do espaço experimental mais próximo do resíduo de acerola é responsável por gerar os melhores resultados de resposta (ajuste ótimo), tanto isoladamente como associando as outras duas farinhas. Desta forma, é possível maximizar a extração de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante. Sendo assim, as misturas de resíduos podem ser consideradas uma boa alternativa para a obtenção de extratos, sem, contudo, haver a necessidade da indústria processadora de frutas proceder a individualização dos resíduos produzidos.

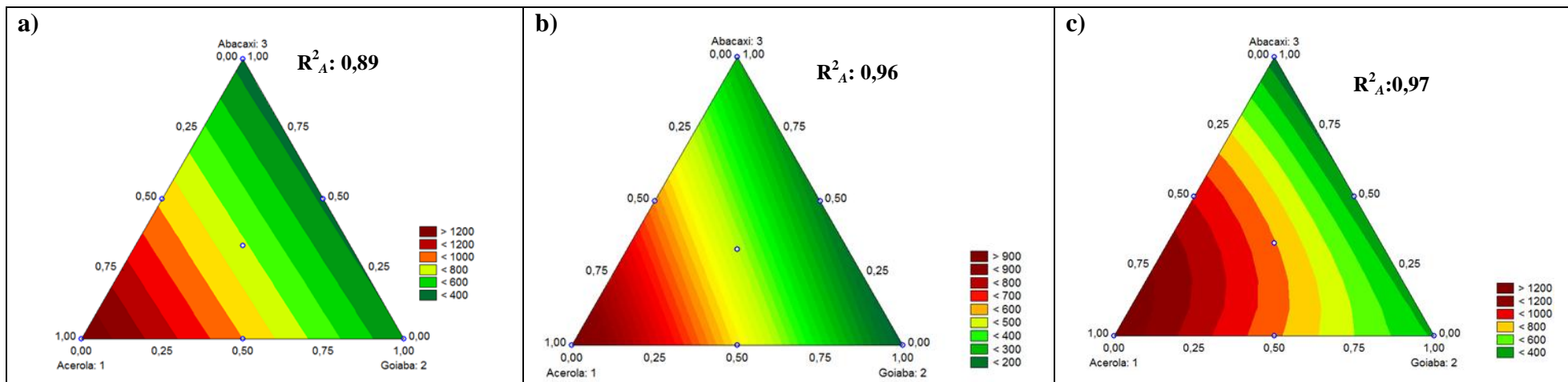


Figura 5. Modelos a) linear, b) quadrático e c) cúbico, para a extração de fenólicos das misturas em etanol 60% aquecido a 60°C.

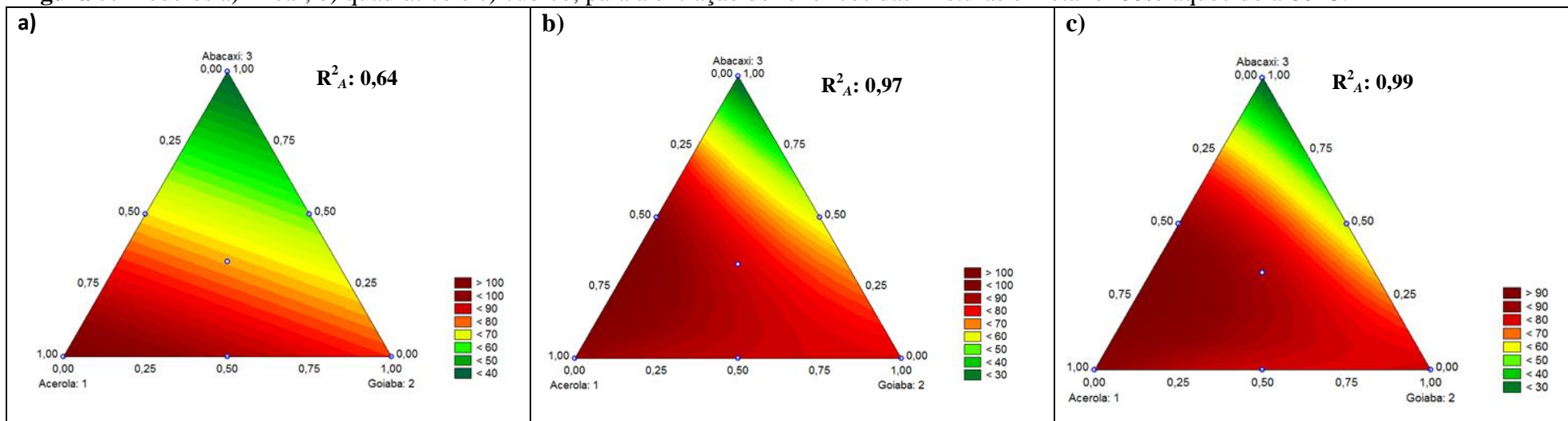


Figura 6. Modelos a) linear, b) quadrático e c) cúbico, para o % de sequestro do radical DPPH das misturas em etanol 60% aquecido a 60°C.

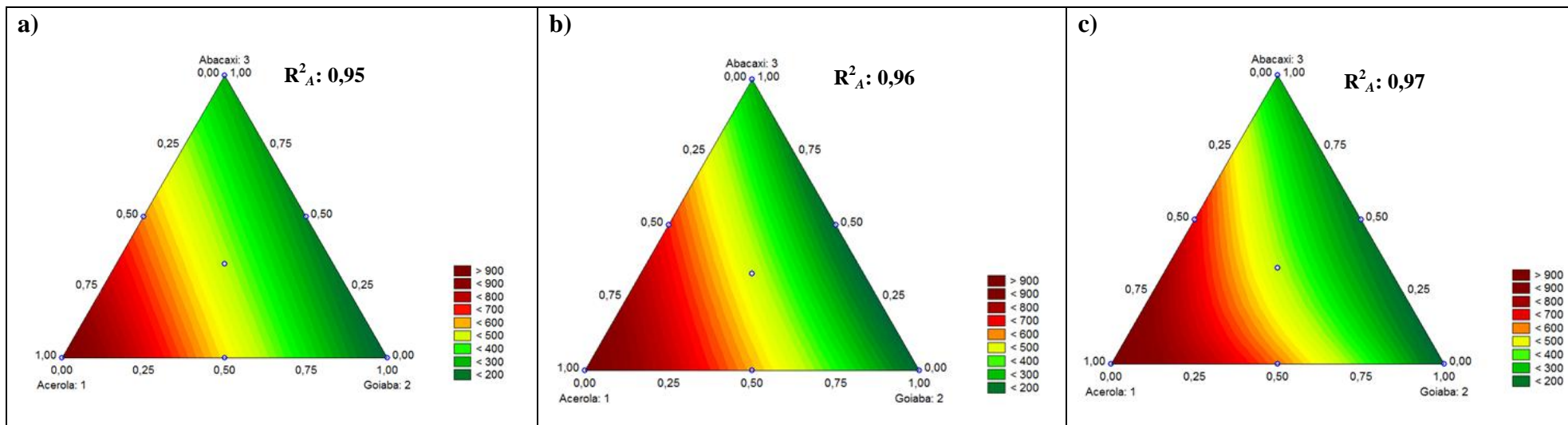


Figura 7. Modelos a) linear, b) quadrático e c) cúbico, respectivamente, para a extração de fenólicos das misturas em água aquecida a 60°C.

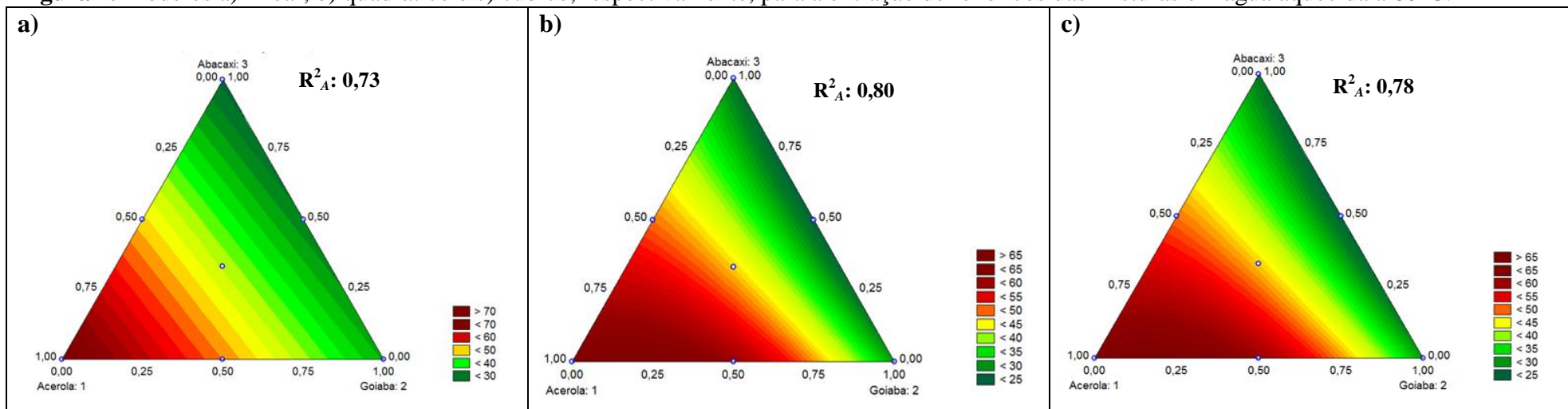


Figura 8. Modelos linear, quadrático e cúbico, respectivamente, para o % de sequestro do radical DPPH das misturas em água aquecida a 60°C.

As proposições das farinhas dos resíduos apontadas pelo planejamento experimental simplex-centroide como as melhores para a obtenção de extratos com elevado teor de fenólicos e capacidade antioxidante, foram utilizadas nas mesmas condições em processo de extração utilizando metanol a 60% e acetona a 60%, cujos teores de fenólicos extraídos encontram-se apresentados na Tabela 6. Estes solventes são referenciados na literatura como bons extratores, razão que motivou testá-los com as misturas de resíduos e nas mesmas condições dos ensaios empregando etanol 60%.

Tabela 6. Teor de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico (EAG) em extratos obtidos a partir de resíduos agroindustriais utilizando diferentes solventes.

Resíduos	Fenólicos (mg EAG/100g)		
	Metanólico (60%)	Acetônico (60%)	Etanólico (60%)
Ac	4386,0 ^{a C}	5807,2 ^{a A}	5213,5 ^{a B}
Ac+Go	2788,2 ^{b B}	4210,2 ^{b A}	2857,7 ^{b B}
Ac+Ab	2597,5 ^{b B}	3177,7 ^{c A}	2844,7 ^{b A B}
Ac+Go+Ab	1815,5 ^{c C}	2956,0 ^{c A}	2588,0 ^{b B}

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna e letras maiúsculas iguais na linha não difere entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Ac: acerola (100%); Ac+Go: acerola (50%) + goiaba (50%); Ac+Ab: acerola (50%) + Abacaxi (50%); Ac+Go+Ab: acerola (33%) + goiaba (33%) + abacaxi (33%).

A quantidade de compostos fenólicos extraída com os três solventes foi diferenciada entre si. A acetona apresentou maior eficácia na extração destes fitoquímicos, quando comparada com os demais solventes extratores ($p < 0,05$). A farinha do resíduo de acerola propiciou a obtenção de extratos hidroacetônico com maior teor de fenólicos. No que se refere aos solventes extratores, em termos quantitativos dos fenólicos extraídos a partir da farinha do resíduo de acerola e da mistura das farinhas dos três resíduos, observa-se que a extração obedeceu a seguinte ordem: acetona>etanol>metanol.

A quantidade de fenólicos extraída a partir das misturas dos resíduos de acerola e goiaba bem como acerola e abacaxi foi maior no solvente acetona ($p < 0,05$), porém não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os outros dois solventes extratores. Independente da mistura dos resíduos, o solvente metanol extraiu a menor quantidade de fenólicos quando comparada com a quantidade extraída pelos outros solventes, contudo, não houve diferença estatística ao comparar com os teores de fenólicos que foram extraídos com etanol ($p > 0,05$).

Os maiores teores de fenólicos extraídos com metanol foram a partir da farinha do resíduo de acerola (4386,0 mg EAG/100g), valor mais expressivo do que o obtido

por Oliveira et al. (2009) ($681 \pm 53,5$ mg EAG/100g) para extratos do resíduo de acerola com metanol sem a adição de água e empregando a temperatura de 60°C. Estes autores, também observaram que o teor de fenólicos desse extrato metanólico foi aproximadamente duas e dez vezes mais elevados do que o dos extratos metanólicos de resíduos de maracujá e abacaxi, respectivamente.

Moo-Huchin et al. (2015) ao avaliarem o teor de fenólicos totais de cascas de caju amarelo e vermelho extraídos com metanol 80% por 30 minutos a 40°C encontraram valores de $633,2 \pm 22,2$ mg EAG/100 g e de $1316,8 \pm 45,7$ mg de EAG/100 g, respectivamente. A extração de compostos fenólicos efetuada com metanol 60% acidificado, sob agitação por 2 horas, à temperatura ambiente, a partir de 14 frutas frescas comumente consumidas na Índia, foi de $374 \pm 20,9$ mg EAG/100g para o fruto da goiaba e de $48 \pm 7,1$ mg EAG/100g para o abacaxi (REDDY et al., 2009). Resíduos de abacaxi e de goiaba, secos a temperatura de 60 °C por 12 horas, e submetidos à extração de fenólicos totais, respectivamente, por extração sequencial com metanol 50% em temperatura ambiente sob agitação por 60 min, seguida pela extração com acetona 70% e agitação por 60 minutos em temperatura ambiente, bem como por maceração com etanol a temperatura ambiente por 24 horas apresentaram, respectivamente, 129 e 39 mg EAG/100g (MARTÍNEZ et al., 2012). Frutas de goiaba submetidas a extração sequencial com metanol 50% acidificado e acetona 70%, exibiram valores de fenólicos de 192 mg EAG/100g de peso fresco quando analisadas por Contreras-Calderón et al. (2011).

Valores de fenólicos totais diferente dos encontrados neste estudo, foram reportados por Silva et al (2014) ao extraírem estes fitoquímicos dos resíduos de acerola, abacaxi e goiaba, tanto por processo de extração com solventes isolados como sequencial, em temperatura ambiente, com etanol 50% e acetona 70%. Os extratos hidroetanólicos e hidroacetônicos combinados apresentaram teor de fenólicos de $7265,29 \pm 16,78$ mg EAG/100g para o resíduo de acerola; $2787,09 \pm 225,38$ mg EAG/100g para o resíduo de abacaxi e $1987,19 \pm 8,06$ mg EAG/100g de para o resíduo de goiaba. Constata-se que os teores de fenólicos extraídos do resíduo de acerola por estes autores foram mais expressivos do que os encontrados neste estudo.

Em bagaços secos de uvas Merlot e Cabernet empregando acetona 50% a 60°C foi obtidos teores de fenólicos totais de 2020 mg de EAG/100g para ambos solventes (LU, FOO, 1999; LUXIMON-RAMMA et al., 2003; SUN et al., 2002). Estes valores foram inferiores aos extraídos da mistura dos três resíduos com com acetona 60%. Vatai et al. (2009), observaram que houve um aumento na extração de fenólicos a

temperatura de 60°C, quando comparado com as temperaturas de extração de 20 e 40°C, independente do solvente utilizado. Este fato, também, foi constatado por outros autores (PINELO et al., 2005; TÜRKER; ERDOGDU, 2006; SPIGNO; DE FAVERI, 2007). Em geral, a eficiência da extração, empregando temperaturas mais elevadas se deve a maior capacidade dos solvente para solubilizar os fitoquímicos de material vegetal, em decorrência da redução da tensão e da viscosidade do solvente, levando a melhor dissolução e penetração na matriz da amostra (MANDAL; MOHAN; HEMALATHA, 2007). Outro fator que contribui para a extração dos fenólicos em frutas e resíduos agroindustriais refere-se a concentração e tipo de substâncias fenólicas presente no material, bem como, a polaridade do solvente extrator (NACZK; SHAHIDI, 2006).

As discordâncias encontradas entre os teores de fenólicos totais deste estudo com os dados da literatura podem ser justificadas, também, pelos fatores que podem influenciar nos níveis de compostos bioativos em frutas e, conseqüentemente, nos seus resíduos agroindustriais, tais como fatores ambientais, origem geográfica, tipo de cultivo, clima, solo, colheita e tempo de armazenamento, diferenças de variedades, fatores genéticos, maturação e estação do ano (IMEH; KHOKHAR 2002; MALLAVADHANI et al., 2006; DENG, et al., 2010). Por outro lado, não se pode excluir a possível presença de outros componentes antioxidantes naturalmente presentes nos resíduos possam interferir na quantificação dos fenólicos, a exemplo do ácido ascórbico que reduz os hidratos de carbono, como também pode reduzir o reagente de Folin usado na determinação dos fenólicos totais (STRATIL et al. 2007), superestimando os teores destes fitoquímicos.

As misturas de solventes e água são mais eficientes para a extração de fenólicos do que o sistema de solvente único (SPIGNO et al., 2007b). Este fato é suportado pelo aparecimento de derivados de glicosídeos de alguns compostos fenólicos que ocorrem naturalmente em materiais de plantas, sendo estes mais solúveis em água (SHAHIDI et al., 2004). De acordo com alguns autores, a adição de água a solventes orgânicos tais como metanol, etanol e acetona, cria um meio mais polar que facilita a extração de compostos fenólicos (SPIGNO et al., 2007; MARTINS et al., 2012). Em geral, as formas agliconas altamente hidroxiladas dos compostos fenólicos são solúveis em álcoois, como etanol e metanol (ARTS; HOLLMAN, 1998). Solventes menos polares, como acetato de etila, acetona e clorofórmio são utilizados para os compostos menos polares e as formas de agliconas altamente metoxiladas que são mais comuns em cascas de frutas (LAFKA et al., 2007).

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com os relatos de alguns autores, em que a mistura água e acetona é considerada um solvente eficaz para a extração de compostos fenólicos de subprodutos de frutas (SHUI; LEONG, 2006; WOLFE, et al. 2003). No entanto, para os extratos hidroacetônicos, assim como os hidrometanólicos serem empregados em alimentos se faz necessário remover estes solventes dos extratos em decorrência de sua toxicidade.

Considerando as possíveis toxicidades, inviabiliza-se a aplicação dos extratos hidrometanólico e hidroacetônico no alimento, tornando essencial remover os solventes antes da aplicação do extrato. Portanto, torna-se relevante averiguar a ocorrência de perdas significativas no teor dos compostos fenólicos extraídos com estes solventes, uma vez que os extratos são submetidos a evaporação à vácuo a 60°C, com o intuito de remover estes solventes. Na Tabela 7, observa-se que todos os extratos hidroacetônicos como os hidrometanólicos, com exceção do obtido com as misturas acerola e goiaba bem como acerola, goiaba e abacaxi, com este último solvente, o processo de evaporação reduziu de forma significativa o teor de fenólicos extraídos. No extrato hidroetanólico, constata-se que também houve redução para os extratos da acerola e da mistura acerola e abacaxi. Possivelmente, estes extratos aportavam compostos mais sensíveis às condições empregadas no processo de evaporação. Desta forma, o etanol por ser um solvente de baixa toxicidade, é possível adicionar o extrato etanólico aos alimentos sem haver necessidade de remover o solvente do extrato, apresenta-se, juntamente com a água, como solventes mais apropriados para a extração de fenólicos.

Tabela 7. Teor de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico (EAG) de extratos de resíduos agroindustriais.

Resíduos	Fenólicos (mg EAG /100g)					
	Metanólico (60%)		Acetônico (60%)		Etanólico (60%)	
	Não evaporado	*Evaporado	Não evaporado	*Evaporado	Não evaporado	*Evaporado
Ac	4386,0 ^a	3776,7 ^b	5807,2 ^a	4768,7 ^b	5213,5 ^a	4265,0 ^b
Ac+Go	2788,2 ^a	2721,2 ^a	4210,2 ^a	2593,5 ^b	2857,7 ^a	2904,7 ^a
Ac+Ab	2597,5 ^a	2322,7 ^b	3177,7 ^a	2338,2 ^b	2844,7 ^a	2244,2 ^b
Ac+Go+Ab	1815,5 ^a	1720,5 ^a	2956,0 ^a	2385,5 ^b	2588,0 ^a	2515,2 ^a

*Evaporado: extratos cujo solvente extrator foi retirado por evaporação sob pressão reduzida. Médias dos extratos (não evaporado e evaporado), obtidos com o mesmo solvente, seguidas por letras iguais na linha não difere entre si pelo teste t (p < 0,05). Ac: acerola (100%); Ac+Go: acerola (50%) + goiaba (50%); Ac+Ab: acerola (50%) + Abacaxi (50%); Ac+Go+Ab: acerola (33%) + goiaba (33%) + abacaxi (33%).

Shirahigue et al. (2010) ao utilizarem resíduos de uva Isabel e Niagara extraídos com etanol 80%, evaporados e reconstituídos em água, obtiveram valores de fenólicos

de 430,55 e 522,22 mg de EAG/100g de resíduo seco, respectivamente. Estes valores estão muito inferiores aos encontrados dos resíduos deste estudo, tendo em vista que o extrato hidroetanólico de todos os resíduos foi superior a 2000 mg de EAG/100g, com destaque para o valor de fenólicos totais do extrato hidroetanólico do resíduo de acerola (4265,0 mg de EAG/100g).

Considerando a classificação estabelecida por Silva et al. (2014) para frutas com teor de fenólicos baixo (<500 mg EAG/100 g de resíduo seco), médio (500-2.500 mg EAG/100 g de resíduo seco) e elevado (> 2500 mg EAG/100 g de resíduo seco), constata-se que os extratos obtidos com misturas de farinhas do resíduo de acerola e abacaxi, independente do solvente extrator, após serem submetidos a evaporação, enquadram-se na classificação de médio teor de compostos fenólicos. O extrato hidroacetônico da mistura dos três resíduos, após evaporação, também pode ser considerado de teor médio de fenólicos, enquanto que os demais extratos podem ser classificados como de alto teor de fenólicos (> 2.500 mg EAG/100 g).

Como foi constatada a redução nos teores de fenólicos totais dos extratos submetidos ao processo de evaporação dos solventes, a capacidade de sequestro destes extratos (antes e após a evaporação) frente ao radical DPPH foi mensurada, e os resultados apresentados na Tabela 8. Evidencia-se que o processo de evaporação dos extratos reduziu de forma significativa a capacidade antioxidante nos extratos do resíduo de acerola, mantendo-se inalterada nos extratos oriundos das três misturas dos resíduos. Outros extratos, dependente do solvente, também tiveram sua ação alterada, apresentando redução sigificativa, ou mantendo-se inalterada, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8. Capacidade de sequestro do radical DPPH de extratos da farinha de resíduos agroindustriais

Resíduos	Sequestro do radical DPPH (%)					
	Metanólico (60%)		Acetônico (60%)		Etanólico (60%)	
	Não evaporado	Evaporado	Não evaporado	Evaporado	Não evaporado	Evaporado
AC	87,58 ^a	75,06 ^b	91,62 ^a	80,13 ^b	86,14 ^a	79,85 ^b
A+G	78,13 ^a	73,56 ^a	89,48 ^a	74,88 ^b	73,29 ^a	74,99 ^a
A+AB	67,96 ^a	78,52 ^b	66,10 ^a	69,42 ^a	72,77 ^a	58,93 ^b
A+G+AB	62,30 ^a	54,23 ^a	82,33 ^a	85,83 ^a	66,90 ^a	68,34 ^a

*Evaporado: extratos cujo solvente extrator foi retirado por evaporação sob pressão reduzida. Médias dos extratos (não evaporado e evaporado), obtidos com o mesmo solvente, seguidas por letras iguais na linha não difere entre si pelo teste t (p< 0,05). Ac: acerola (100%); Ac+Go: acerola (50%) + goiaba (50%);

Ac+Ab: acerola (50%) + Abacaxi (50%); Ac+Go+Ab: acerola (33%) + goiaba (33%) + abacaxi (33%). Sequestro do radical DPPH (%) aos 5 min da reação.

Possivelmente, as alterações na capacidade antioxidante dos extratos podem ser justificadas, não só pela redução no teor de fenólicos dos extratos, mas, também, pela interação entre os polifenóis presentes no meio. É bem conhecida a tendência destas moléculas de combinar-se por reações de polimerização, promovendo uma complexidade molecular, e diminuindo, assim, a disponibilidade dos grupos hidroxila. Estas reações ocorrem, provavelmente em maior extensão, em sistemas onde existe maior concentração de moléculas com poder antioxidante, tendo em vista que favorece a possibilidade de colisões efetivas entre moléculas individuais, com consequente redução de interação entre estas moléculas e o radical DPPH (PINELO et al., 2004).

Shirahigue et al. (2010) relataram que a capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos etanólicos dos resíduos de uva Niagara e Isabel foi de $44,47 \pm 9,19$ e $47,29 \pm 5,79\%$, respectivamente, considerando-a baixa. Assim, levando em conta que a capacidade de sequestro do radical DPPH de todos os extratos foi superior a 60%, com exceção do extrato metanólico da mistura dos três resíduos (54,23%) e do extrato etanólico da mistura acerola e abacaxi (58,93%), pode-se afirmar que os extratos das misturas exibem uma capacidade antioxidante de média a forte.

Os dados obtidos revelam que a acetona, embora tenha apresentado eficácia na extração de compostos fenólicos a partir das misturas de resíduos agroindustriais, não parece viável empregá-la como solvente extrator. Pois, para aplicar o extrato hidroacetônico em alimento se faz necessário submetê-lo a processos para retirada do solvente, o que demanda tempo, energia e redução no teor de fenólicos extraídos, além de comprometer a capacidade antioxidante do extrato. Sendo assim, o uso tanto do etanol como da água como solventes extratores são mais recomendados tendo em vista que a etapa para remoção do solvente é dispensável.

Além dos extratos hidrometanólicos, hidroacetônico e o hidroetanólico, não evaporados, os extratos aquosos das misturas dos resíduos foram submetidos aos ensaios de sequestro do radical ABTS, cujos resultados estão apresentados na Tabela 9. Observa-se que todos os extratos exibiram ação antioxidante frente a este radical, entretanto em intensidade diferenciada. Os extratos hidrometanólico, hidroacetônico e hidroetanólico do resíduo de acerola exibiram os maiores valores de TEAC, os quais foram superiores aos dos extratos das demais misturas de farinha dos resíduos ($p < 0,05$).

Tabela 9. Capacidade antioxidante de extratos da farinha do resíduo agroindustriais através do radical ABTS.

Farinha	TEAC (μM Trolox/g de farinha)			
	Metanol 60 %	Acetona 60 %	Etanol 60%	Água
A	33,70 ^{C a}	67,75 ^{A a}	46,79 ^{B a}	14,84 ^{D b}
A+G	22,36 ^{A b}	24,75 ^{A b}	28,57 ^{A b}	24,38 ^{A a}
A+AB	15,66 ^{C c}	32,33 ^{A b}	18,23 ^{C c}	23,89 ^{B a}
A+G+AB	15,97 ^{C c}	25,57 ^{A b}	20,45 ^{B c}	14,70 ^{C b}

TEAC= atividade antioxidante em equivalente Trolox (6 minutos). Os valores referem-se à média de três determinações. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na linha e por letras minúsculas iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($>0,05$).

Extratos hidroetanólico a 40% e 75% de resíduos de uvas (*Vitis vinifera* L.) das variedades branca e vermelhas exibiram, respectivamente, 48,10 e 169,86 μM Trolox/g de resíduo seco e 36,56 e 175,10 μM Trolox/g de resíduo seco (DOMÍNGUEZ-PERLES et al., 2014). Em extratos hidroetanólico de resíduo de manga, maracujá, abacaxi e goiaba, Martínez et al. (2012) relatam que a capacidade de sequestro do radical ABTS foi de $15,3 \pm 1,45$; $2,1 \pm 0,25$; $1,7 \pm 0,20$ e $1,9 \pm 0,05$ μM Trolox/g de amostra seca, respectivamente. Nora et al. (2014) ao avaliarem extrato combinado (metanólico 50% e acetônico 70%) de goiaba vermelha obteve valores de capacidade antioxidante de 248,6 μM Trolox/g de fruta seca. Resíduos agroindustriais de acerola foram submetidos à extração com metanol 80%, acetona 80% e etanol 80% separadamente, sendo a extração sequencial a temperatura ambiente com 3 ciclos de 20 minutos cada, resultando em extratos metanólicos, acetônicos e etanólicos com valores respectivos de capacidade antioxidante de $1145,50 \pm 45,81$, $291,71 \pm 20,90$ e $1445,10 \pm 73,07$ μM Trolox/g de farinha (CAETANO et al. 2011).

Os resultados da capacidade de sequestro do radical ABTS, diferentemente da capacidade de sequestro do DPPH, pode sofrer influência dos carotenóides, uma vez que são capazes de reagir com o radical ABTS (RE et al., 1999; MÜLLER et al., 2011). Outro fator que, também pode influenciar na ação antioxidante, é o processo de secagem da matéria prima. Pesquisas recentes sugerem que o aumento significativo da capacidade antioxidante de frutas e de resíduos agroindustriais, após a secagem, pode ser devido à ocorrência de uma parcial oxidação dos polifenóis, promovendo maior capacidade antioxidante do que a dos fenólicos não oxidados (LÓPEZ-NICOLAS; GARCÍA-CARMONA, 2010). Isso pode ser explicado pelo fato da secagem propiciar a ocorrência da reação de Maillard, que leva a formação de novos compostos com elevada capacidade antioxidante (QUE et al, 2008; MIRANDA et al, 2009). Esses compostos apresentam uma atividade antioxidante considerável e estão geralmente associados com

a formação de melanoidinas, responsáveis pela cor castanha dos produtos (MANZOCCO et al., 2001).

Vários estudos têm mostraram uma correlação positiva entre o teor total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em plantas (BENZIE; SZETO, 1999; LUGASI; HOVARI, 2003). Considerando que a correlação é dita perfeita quando $r=1$ pode-se classificá-la em forte ($0,8 \leq r < 1$), moderada ($0,5 \leq r < 0,8$), fraca ($0,1 \leq r < 0,5$) e ínfima ($0 < r < 0,1$) de acordo com Santos, Carla (2007), evidencia-se na Tabela 10 que os extratos aquosos das misturas de farinhas dos resíduos de acerola e goiaba, da mistura das farinhas dos resíduos de acerola e abacaxi, bem como, o extrato metanólico da mistura das farinhas dos três resíduos apresentaram uma correlação forte e positiva ($r=0,9666$; $r=0,9632$ e $r=0,9731$, respectivamente). Este dado demonstra que ao aumentar a concentração de fenólicos do extrato, aumenta-se a capacidade antioxidante dos extratos.

Tabela 10. Capacidade de sequestro do radical DPPH em função da concentração de fenólicos nos extratos dos resíduos agroindustriais.

EXTRATOS	% sequestro			Coeficiente de correlação de Pearson (r)	
	Concentração de fenólicos dos extratos				
	40µg/mL	60µg/mL	100µg/mL		
Metanólico	Acerola (100%)	81,35 ^b	88,01 ^a	87,81 ^a	0,7384
	Acerola (50%)+Goiaba (50%)	88,65 ^a	90,50 ^a	90,06 ^a	0,5863
	Acerola (50%)+Abacaxi (50%)	85,77 ^b	88,77 ^a	85,28 ^b	-0,3139
	Acerola (33%) + Goiaba (33%) + Abacaxi (33%)	89,16 ^a	90,02 ^a	90,76 ^a	0,9731
Acetônico	Acerola (100%)	80,68 ^b	87,52 ^a	84,06 ^a	0,3209
	Acerola (50%)+Goiaba (50%)	92,23 ^a	93,23 ^a	91,30 ^a	-0,6356
	Acerola (50%)+Abacaxi (50%)	83,46 ^a	87,25 ^a	86,35 ^a	0,5874
	Acerola (33%) + Goiaba (33%) + Abacaxi (33%)	89,21 ^a	89,05 ^a	85,32 ^b	-0,9562
Etanólico	Acerola (100%)	88,56 ^a	89,18 ^a	86,50 ^b	-0,8492
	Acerola (50%)+Goiaba (50%)	89,08 ^a	89,09 ^a	86,09 ^b	-0,9440
	Acerola (50%)+Abacaxi (50%)	87,93 ^b	89,78 ^a	86,12 ^b	-0,6499
	Acerola (33%) + Goiaba (33%) + Abacaxi (33%)	89,10 ^a	89,34 ^a	86,03 ^b	-0,9216
Aquoso	Acerola (100%)	69,42 ^b	85,45 ^a	84,33 ^a	0,7135
	Acerola (50%)+Goiaba (50%)	69,19 ^c	79,02 ^b	86,75 ^a	0,9666
	Acerola (50%)+Abacaxi (50%)	71,72 ^c	79,49 ^b	85,32 ^a	0,9632
	Acerola (33%) + Goiaba (33%) + Abacaxi (33%)	72,24 ^b	84,37 ^a	82,93 ^a	0,6803

Médias seguidas por letras iguais na linha não difere entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Sequestro do radical DPPH (%) aos 5 min da reação.

Observa-se, ainda, que os extratos acetônicos e etanólicos da mistura das farinhas dos três resíduos a correlação foi forte e negativa ($r=-0,9562$; $r=-0,9216$, respectivamente), demonstrando que aumentando a concentração de fenólicos dos extratos ocorre redução significativa da ação antioxidante. Nos demais extratos esta correlação foi de fraca a moderada. A correlação direta entre teor de fenólicos e a ação antioxidante, ainda não está bem estabelecida. A ação antioxidante, em alguns casos depende da estrutura química do composto bioativo, da presença no meio de reação de outros compostos que possam interagir com os compostos bioativos, bem como de sinergismos entre os fenólicos, entre outros fatores (CHAIYASIT et al., 2007; SHIRAHIGUE et. al., 2010; LI et al., 2011; ZHONG; SHAHIDI 2011).

CONCLUSÕES

Os resíduos agroindustriais de abacaxi, acerola e goiaba descartados pelas indústrias de polpa congelada, apresentam em sua composição, além de compostos fenólicos, minerais, lipídeos e proteínas e quantidades expressivas de carboidratos totais.

A participação da farinha do resíduo de acerola nas misturas binárias e ternárias foi relevante para a obtenção de extratos com elevada concentração de compostos fenólicos e forte capacidade antioxidante.

A quantidade de compostos fenólicos extraídos das misturas binárias e ternárias foi maior ao empregar a acetona a 60% como solvente extrator. No entanto, para aplicação de extratos hidroacetônico em alimentos, em face da toxicidade deste solvente, se faz necessário à adoção de procedimento operacional para a sua remoção. Este procedimento reduz a concentração de fenólicos e a capacidade antioxidante dos extratos. Assim, o uso tanto do etanol como da água como solventes extratores são mais recomendados tendo em vista que a etapa para remoção do solvente é dispensável.

Os resultados obtidos indicam que as misturas de farinhas dos resíduos agroindustriais podem ser consideradas como uma boa alternativa para a obtenção de extratos com elevado teor de fenólicos, com perspectiva de aplicação em alimentos. Estas misturas, também, se apresentam promissoras para serem usadas como ingredientes no desenvolvimento de novos produtos, frente à concentração de compostos bioativos, com propriedade antioxidante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS, 2008. História da Laranja e Subprodutos da Laranja. Acesso em: www.abecitrus.com.br/ (acesso 02.01.14).

AL-MAIMAN, S.A.; AHMAD, D. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. **Food Chemistry**, v. 76, p. 437-441, 2002.

ALI, A.; YUSRA, M.; AL-KINDI.; AL-SAID, F. Chemical composition and glycemc index of 3 varieties of Omani dates. **International Journal of Food Sciences and Nutrition** , v.60, p.51-62, 2009.

ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Optimization of a quantitative method for the determination of catequins in fruits and legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, n. 12, p. 5156-5162, 1998.

BABBAR, N.; OBEROI, H. S.; SANDHU, S.K.; BHARGAV, V. K. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2568-2575, 2014.

BAHORUN, T.; LUXIMON-RAMMA, A.; CROZIER, A.; ARUOMA, O. I. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 12, p. 1553-1561, 2004.

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

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2 ed. Campinas: Ed. UNICAMP, p.299, 1995.

BECKMAN C.H., **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 57, p. 101, 2000.

BEN-ARIE, R.; SEGAL, N.; GUELFAT-REICH, S. The maturation and ripening of the 'wonderful' pomegranate. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 109, p. 898-902, 1984.

BENNETT, L. E.; JEGASOTHY, H. KONCZAK, I. FRANK, D.; SUDHARMARAJAN, S.; CLINGELEFFER, P. R. Total polyphenolics and antioxidant properties of selected dried fruits and relationships to drying conditions. **Journal of functional foods**. v.3, p. 115-124, 2011.

BENGOECHEA, M.L.; SANCHO, A.I.; BARTOLOMÉ, B.; ESTRELLA I.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; HERNÁNDEZ T. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.4071, 1997.

BENZIE, I.F.F.; SZETO, Y.T. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.633-636, 1999.

- BIESAGA, M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p.2505-2512, 2011.
- BONILLA, F. et al. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. **Food Chemistry**, v.66, p.209-215, 1999.
- BORCHANI, C.; BESBES, S.; BLECKER, C.; MASMOUDI, M.; BAATI, R.; ATTIA, H. Chemical properties of 11 date cultivars and their corresponding fiber extracts. **African Journal of Biotechnology**, v.9,p.4096-4105, 2010.
- BOX, G.E.P.; DRAPER, N.R. Empirical model building and response surfaces. New York: John Wiley and Sons, 1987.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.
- CAETANO, A. C. S.; ARAÚJO, C. R.; LIMA, V. L. A. G.; MACIEL, M. I. S.; MELO, E. A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.31, n.3, 2011.
- CALADO, V. **Planejamento de experimentos usando o statistica**. Ed. e-papers, 2005.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. São Paulo: UNICAMP, p.212, 2001.
- CHANAKYA, H.N.; SHARMA, I.; RAMACHANDRA, T.V. Micro-scale anaerobic digestion of point source components of organic fraction of municipal solid waste. **Waste Manage**, v.29, n.4, p.1306-1312, 2009.
- CHEN J.; XIA W.; LIU P.; ZHANG J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p.170-179, 2011.
- CROSIER, R. B. Mixture experiments: geometry and pseudocomponents. **Technometrics**, v.26, n.3, aug. 1984.
- CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v.44, p.2047-2053, 2011.
- CORREIA, R. T. P.; BORGES, K. C.; MEDEIROS, M. F.; GENOVESE, M. I. Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. **Food science and technology international**. v. 18, n.6, p.539-547, 2011.
- CORNELL, J. A. **Experiments with mixtures - designs, models and the analysis of mixture data**, 2nd ed., John Wiley and Sons: New York, 1990.
- COSTA, L.G. Methanol. *Encyclopedia of the Neurological Sciences* (Second Edition), p. 1116, 2014.

- DENG, S.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J. A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. **Food Chemistry**, v.122, p.267-270, 2010.
- DEVATKAL, S.K.; NAVEENA, B.M. Effect of salt, Kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. **Meat Science**, v.85, n.2, p. 306-311, 2010.
- DOMÍNGUEZ-PERLES, R.; TEIXEIRA, A. I.; ROSA, E.; BARROS, A. I. Assessment of (poly)phenols in grape (*Vitis vinifera* L.) stems by using food/pharma industry compatible solvents and Response Surface Methodology. **Food Chemistry**, v.164, p.339-346, 2014.
- DURLING, N. E.; CATCHPOLE, O. J.; GREY, J. B.; WEBBY, R. F.; MITCHELL, K. A.; FOO, L. Y. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. **Food Chemistry**, v.101, p.1417-1424, 2007.
- ESCRIBANO-BAILÓN, M.T.; SANTOS-BUELGA, C. Polyphenol extraction from foods. In: **Methods in Polyphenol Analysis**, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2003.
- FASSEAS, MK.; MOUNTZOURIS, K.C.; TARANTILIS, P.A.; POLISSIOU, M.; ZERVAS, G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. **Food Chemistry**, v.106, p.1188-1194, 2007.
- FAWOLE, O. A.; OPARA, U. L. Effects of maturity status on biochemical content, polyphenol composition and antioxidant capacity of pomegranate fruit arils (cv. 'Bhagwa'). **South African Journal of Botany**, v.85, p. 23-31, 2013.
- GALANAKIS, C.M. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. **Trends in Food Science & Technology**, v.26, p. 68-87, 2012.
- GIL, M.I.; GARCIA-VIGUERA, C.; ARTÉS, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F. Changes in pomegranate juice pigmentation during ripening. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.68, p. 77-81, 1995.
- GIL, M. I.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; HESS-PIERCE, B.; HOLEROFT, D. M.; KADER, A. A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.48, p.4581-4589, 2000.
- GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v.119, p.1030-1039, 2010.
- GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, v.23, p.1719-1726, 2003.
- HARE, L. B. Mixture designs applied to food formulation. **Food Technology**, Chicago, v.28, n.3, p.50-62, 1974.

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

HASNAOUI, A.; ELHOUMAIZI, M.A.; HAKKOU, A.; WATHELET, B.; SINDIC, M. Physico-chemical characterization, classification and quality evaluation of date palm fruits of some Moroccan cultivars. **Journal of Scientometric Research**, v. 3, p.139-149, 2011.

Hazardous Substances Database (HSDB). 1995. Online file, available through the National Library of Medicine's MEDLARS system, National Library of Medicine.

IBRAHIM, R.; BARRON, D.; DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. Methods in Plant Biochemistry, London, UK., v.1, p.75-111, Academic Press, 1989.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, n.126, p.1821-1835, 2011.

IMEH, U.; KHOKHAR, S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.22, p.6301-6306, 2002.

KHOO, H. Life cycle impact assessment of various waste conversion technologies. **Waste Manage**, v.29, n.6, p.1892-1900, 2009.

KIM, D.-O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3713-3717, 2002.

KIM, D.O.; LEE, C.Y. Extraction and isolation of polyphenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, published online: fev., 2003.

KIM, D. O.; LEE, C. Y. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. **Critical Reviews Food Science and Nutrition**, v. 44, p. 253-273, 2004.

KO, M. J.; CHEIGH, C. I.; CHUNG, M. S. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). **Food Chemistry**, v.143, n.15, p. 147-155, 2014.

KUMAR, V. B. A.; MOHAN, T. C. K.; MURUGAN, K. Purification and kinetic characterization of polyphenol oxidase from Barbados cherry (*Malpighia glabra* L.). **Food Chemistry**, v. 110, p.328-333, 2008.

LAFKA, T. I.; SINANOGLU, V.; LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**. v. 104, n. 3, p. 1206-1214, 2007.

LÓPEZ-NICOLAS, M. J.; GARCÍA-CARMONA, F.; ROSA, L.; PARRILLA, E. A.; GÓNZALEZ-AGUILAR, G. Enzymatic and nonenzymatic degradation of polyphenols. **Fruit and Vegetable Phytochemicals**, p.101-103, Wiley-Blackwell Publishing, Iowa, 2010.

LU, Y.; FOO, L. Y. Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*. **Phytochemistry**, v. 51, p.91-94, 1999.

LUGASI, A., HOVARI, J. Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages. *Nahrung/Food* v.47, p.79-86, 2003.

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, p.496-502, 2003.

MALLAVADHANI, U.A.; SUDHAKAR, K.V.S.; SATHYANARAYANA, A.; MAHAPATRA, W.; RICHARD, B. Chemical and analytical screening of some edible mushrooms. **Food Chemistry**, v.95, p. 58-64, 2006.

MANDAL, V.; MOHAN, Y.; HEMALATHA, S. Microwaves assisted extraction – An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Reviews**, v.1, p.7-16, 2007.

MANZOCCO, L.; CALLIGARIS, S.; MASTROCOLA, D.; NICOLI, M.; LERICI, C. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science and Technology**, v.11, p. 340-346, 2001.

MARTINS, S. A.; TEIXEIRA, C. N.; MUSSATTO, S. I. Bioactive compounds (phytoestrogens) recovery from *Larrea tridentate* leaves by solvents extraction. **Separation and Purification Technology**, v.88, p. 163-167, 2012.

MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MIGUEL, A.; MENESES, A.; JORGE, G.; FIGUEROA A, JOSÉ A. PÉREZ-ÁLVAREZ; MANUEL VIUDA-MARTOS. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v.135, p. 1520-1526, 2012.

MELGAREJO, P.; SALAZAR, D. M.; ARTÉS, F. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. **European Food Research and Technology**, v. 211, p. 185-190, 2000.

MERCALI, G. D.; JAESCHKE, D. P.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, p.91-95, 2012.

MIRANDA, M.; MAUREIRA, H.; RODRÍGUEZ, K. VEGA-GÁLVEZ, A. Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of Aloe Vera (*Aloe Barbadensis* Miller) gel. **Journal of Food Engineering**, v.91, p. 297-304, 2009.

MIRDEHGHAN, S.H.; RAHEMI, M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p.120-127, 2007.

- MONTGOMERY, D. C.; VOTH, S.R. Multicollinearity and leverage in mixture experiments. **Journal of Quality Technology**, v. 26, p. 96-108, 1994.
- MOO-HUCHIN, V. M.; MOO-HUCHIN, M. I.; ESTRADA-LEON, R. J.; CUEVAS-GLORY, L.; ESTRADA-MOTA, I. A.; ORTIZ-VAZQUEZ, E.; BETANCUR-ANCONA, D.; SAURI-DUCH, E. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, V.166, P.17-22, 2015.
- MÜLLER, L., FRÖHLICH, K., BÖHM, V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. **Food Chemistry**, v.129, p.139-148, 2011.
- NACZKA, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p. 95–111, 2004.
- NASCIMENTO, R. J.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*psidium guajava* l.) **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n.2, p. 209-216, 2010.
- NETO, B. B.; CARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: aplicações na ciência e na indústria. **Ed. Bookman**, 4ª ed, p.414, 2010.
- NORA; C. D.;MÜLLER, C. D.; BONA, G.S.; RIOS, A. O.; HERTZ, P. F.; JABLONSKI, A.;JONG, E. V.; FLÔRES, S. H. Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleyanum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.34, n.1, p. 18 25, 2014.
- OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A. et al. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v.115, p.469-475, 2009.
- PÉREZ-ILZARBE, F.J.; MARTINEZ, V. T.; HERNÁNDEZ, I. et al. Phenolic compounds in apples: varietal differences. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, v.192, n.6, p.551-554, 1991.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNEIRO, M.; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.;SAURA-CALIXT, FULGENCIO. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v.41, p.272-285, 2008.
- PINELO, M.; MANZOCCO, L.; NUÑEZ, M. J.; NICOLI, M. C. Interaction among Phenols in Food Fortification: Negative Synergism on Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.1177-1180, 2004.
- PINELO, M.; RUBILAR, M.; JEREZ, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. J. Effect of solvent, temperature, and solvent-to solid ratio on the total phenolic content and

- antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 6, p.2111-2117, 2005.
- PRIDHAM J.B. Phenolics in Plants in Health and Disease, Pergamon Press, New York, NY, 1960.
- PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4290-4302, 2005.
- POYRAZOGLU, E.; GOKMEN, V.; ARTIK, N. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum L.*) grown in Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.15, p. 567-575, 2002.
- PURAVANKARA, D.; BOGHRA, V.; SHARMA, R. S. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera Indica L.*) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.522-526, 2000.
- QUE, F.; MAO, L.; FANG, X.; WU, T. Comparison of hot airdrying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch) flours. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p. 1195-1201, 2008.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p.1231-1237, 1999.
- REDDY, C. V. K.; SREERAMULU, D.; RAGHUNATH, M. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. **Food Research International**, v.43, p. 285-288, 2010.
- REIS, C.; ANDRADE, J.C. Planejamento experimental para misturas usando cromatografia de papel. **Química Nova**, v.19, n.3, p.313-319, 1996.
- REIS, S. F.; RAI, D. K.; ABU-GHANNAM, N. Water at room temperature as a solvent for the extraction of apple pomace phenolic compounds, **Food Chemistry**, v.135, p. 1991-1998, 2012.
- REZZADORI, K.; BENEDETTI, S.; AMANTE, E. R. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, p.606-614, 2012.
- SAFFI, E.B.; TRIGUI, M.; THABET, R.; HAMMAMI, M.; ACHOUR, L. Common date palm in Tunisia: chemical composition of pulp and pits. **International Journal of Food Science & Technology**, v.43, p.2033-2037, 2008.
- SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.; A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270-276, 1998.
- SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.32, p.67-103, 1992.

- SHAHIDI, F. Antioxidants in food and food antioxidants. **Nahrung**, v. 44, p. 158-163, 2000.
- SHEFFE, H. The simplex-centroid design for experiments with mixtures. **Journal of the Royal Statistical Society. Serie B (Methodological)**, v. 20, n. 2, p. 344-360, 1958.
- SHILS, M. E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. **Modern nutrition in health and disease**. 8th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, v.2, p.2069, 1994.
- SHUI, G.; LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**. v. 97, n. 2, p. 277-284, 2006.
- SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.143, p.398-404, 2014.
- SIMÓN, B. F.; PÉREZ-ILZARBE, J.; HERNÁNDEZ, T.; GÓMEZ-CORDOVÉS C.; ESTRELLA, I. **Agricultural and Food Science**, v. 40, p.1531, 1992.
- SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERI, D. M. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. **Journal of Food Engineering**, v.81, p.200-208, 2007.
- STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁN, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, 71, 1741–1751, 2007.
- SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; HAI, R.; LIU. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.7449-7454, 2002.
- THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.669-675, 2006.
- THRIEL, C. V. Toxicology of Solvents (Including Alcohol). Reference Module in Biomedical Sciences, 2014. Online:
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128012383002105>>, Acesso em 06/01/2015.
- TOWERS, G.H.N. Biochemistry of Phenolic Compounds. Ed. J.B. Harborne, London, UK, Academic Press, p. 249-294, 1964.
- TURKER, N.; ERDOGDU, F. Effects of pH and temperature of extract medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var L.). **Journal of Food Engineering**, v.76, n.4, p.579-583, 2006.
- VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v.111, p. 816-823, 2008.

- VATAI, T.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v.90, n.2, p. 246-254, 2009.
- VEGA-GALVEZ, A.; AH-HEN, A.; CHACANA, M. Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var Granny Smith) slices. **Food Chemistry**, v.132, p.51-59, 2012.
- VEGGI, P.C.; PRADO, J.M.; BATAGLION, G. A.; EBERLIN, M. N.; MEIRELES, M. A. A. Obtaining phenolic compounds from jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) bark by supercritical fluid extraction. **Journal Supercritical Fluids**, v.89, p.68-77, 2014.
- VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v.71, p.195-198, 2000.
- VITALI, F.; PARMIGIANI, S.; VACCARI, M.; COLLIVIGNARELLI, C. Agricultural waste as household fuel: Techno-economic assessment of a new rice-husk cookstove for developing countries. **Waste Management**, v.33, n.12, p.2762-2770, 2013.
- WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1801-1812, 1999.
- WILLIAMS, G. M.; IATROPOULOS, M. J.; WHYSNER, J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, p.1027-1038, 1999.
- WINK, M. **Advances in Botanical Research**. v.25, p.141, 1997.
- WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, p. 609-614, 2003.
- ZAPOROZHETS, O. A.; KRUSHYNSKA, O. A.; LIPKOVSKA, N. A.; BARVINCHENK, V. N. A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 21-25, 2004.