



SIMARA SUELEM PEREIRA

**COMPOSTOS BIOATIVOS E
CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE
FRUTAS TROPICAIS**

LAVRAS-MG

2018

SIMARA SUELEM PEREIRA

**COMPOSTOS BIOATIVOS E CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE
FRUTAS TROPICAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Profa. Dra. Fabiana Queiroz

Coorientadora

Profa. Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho

LAVRAS-MG

2017

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pereira, Simara Suelem.

Compostos bioativos e caracterização de sementes de frutas
tropicais / Simara Suelem Pereira. - 2017.

114 p. : il.

Orientador(a): Fabiana Queiroz.

Coorientador(a): Elisângela Elena Nunes Carvalho.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Resíduos industriais. 2. Compostos bioativos. 3. Superfície de
mistura. 4. Solventes alternativos . I. Queiroz, Fabiana. II. Carvalho,
Elisângela Elena Nunes. III. Título.

SIMARA SUELEM PEREIRA

**COMPOSTOS BIOATIVOS E CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE
FRUTAS TROPICAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em, 15 de setembro de 2017.

Prof. Dr. Marcelo Franco	UESC
Profª. Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho	UFLA
Prof. Dr. Jefferson Luiz Gomes Corrêa	UFLA

Profª. Dra. Fabiana Queiroz

Orientadora

LAVRAS-MG

2017

À minha mãe, Simone.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo, inclusive por encontrar pessoas incríveis durante minha caminhada nesta Terra.

À UFLA e ao Departamento de Ciências dos Alimentos pela oportunidade. Ao CNPQ pelo incentivo financeiro.

À minha mãe pelo exemplo, motivação e apoio. Ao meu pai pela paciência e reconhecimento, e à minha irmã pela amizade.

Ao Fernando pelo amor e companheirismo, além da grande ajuda em todas as etapas desta caminhada.

Às queridas orientadoras, professora Fabiana e professora Elisângela, pelos ensinamentos, paciência e motivação.

Ao professor Marcelo Franco, por sua presença em minha defesa e por sempre partilhar seus conhecimentos.

Ao professor Jefferson pela presença e pela disponibilidade em emprestar seus equipamentos.

À Juliana pela grande ajuda no decorrer das análises.

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, especialmente Gabriel, Erica e Maria Cecília.

À Tina pelo apoio e disposição em ajudar.

A todos os funcionários do corpo técnico administrativo e serviços gerais do departamento, pela cordialidade e apoio.

À Maria Antônia, Nina, Lina e Aero clube de Lavras pelo auxílio na aquisição da matéria-prima necessária para a realização desta pesquisa.

Aos meus primos e amigos pelo apoio, visitas e por compreenderem minha ausência. Especialmente à Deise pela dedicação em auxiliar.

Finalmente, agradeço ao Victor por ser a motivação para a conclusão deste trabalho e pela compreensão, à sua maneira, durante os momentos em que precisei me dedicar a este trabalho.

Vejam o Senhor, o seu Deus, põe diante de vocês esta terra. Entrem na terra e tomem posse dela, conforme o Senhor, o Deus dos seus antepassados, disse a vocês. Não tenham medo nem desanimem.

Deuteronômio 1:21

RESUMO GERAL

O descarte de resíduos gerados pela indústria de processamento de alimentos traz impactos negativos ao ambiente. Em vista disso tem-se observado cada vez mais o conhecimento do potencial destes resíduos. Este trabalho buscou caracterizar e avaliar a viabilidade da extração de substâncias bioativas nas sementes de tamarindo (*Tamarindus indica* Linn.), manga (*Mangifera indica* Linn.) e pitanga (*Eugenia uniflora* Linn.). As sementes foram analisadas quanto a composição centesimal, teores de minerais, amido, pectina, fenólicos totais, antocianinas, carotenóides e atividade antioxidante por DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Os carboidratos constituem a fração majoritária nas sementes, sendo 72,06%, 80,32% e 86,02% para tamarindo, manga e pitanga, respectivamente. O valor energético observado na semente de tamarindo foi 423,42 kcal/100g, manga 430,93 kcal/100g e pitanga 378,86 kcal/100g. As sementes são ricas em compostos fenólicos (122,29 mg de EAG/g para tamarindo, 167,51 mg de EAG/g para manga e 268,29 mg de EAG/g para pitanga), magnésio e cobre. Devido ao elevado teor de antocianinas, foi escolhida a semente de tamarindo para o processo de extração, utilizando o planejamento de misturas tipo simplex-centróide, empregando solventes considerados menos agressivos ao meio ambiente e à saúde humana (água, etanol e isopropanol) em três temperaturas 25°C, 35°C e 55°C, com tempo (4 horas) e razão semente: solvente (1:5) previamente fixados. Através desse planejamento observou-se um aumento na extração de fenólicos totais de 20 mg/100g quando se utilizou isopropanol como solvente puro a 35°C até 1100 mg/100g empregando-se a mistura água: isopropanol a 55°C. O teor de antocianinas de 1,11 mg/100g no extrato obtido a partir da água como solvente puro a 35°C chegou a 6,89 mg/100g quando foram empregados água e etanol a 25°C. A porcentagem de sequestro de radical DPPH dos extratos variou de 0,4% com isopropanol a 25°C, a 91,3% no extrato obtido a 55°C da mistura de água e isopropanol. O planejamento de misturas simplex-centróide mostrou-se uma eficiente forma de otimizar os processos de extração de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante.

Palavras-chave: Resíduos industriais. Compostos bioativos. Superfície de mistura. Solventes alternativos.

GENERAL ABSTRACT

The disposal of waste generated by the food processing industry brings negative impacts to the environment. Therefore, the knowledge of the potential of this waste has been increasingly observed. This study aimed to characterize and evaluate the viability of extracting bioactive substances in tamarind (*Tamarindus indica* Linn.), mango (*Mangifera indica* Linn.) and pitanga (*Eugenia uniflora* Linn.) seeds. The seeds were analyzed for percent composition, mineral content, starch, pectin, total phenolics, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Carbohydrates are the majority fraction in the seeds, with 72.06%, 80.32% and 86.02% for tamarind, mango and pitanga, respectively. The energy values observed were 423.42 kcal/100g for tamarind seeds, 430.93 kcal/100g for mango and 378.86 kcal/100g for pitanga. Seeds are rich in phenolic compounds (122.29 mg EAG/g for tamarind, 167.51 mg EAG/g for mango and 268.29 mg EAG/g for pitanga), magnesium and copper. Due to the high anthocyanin content, the tamarind seed was chosen for the extraction process, using simplex-centroid design, with solvents considered to be less aggressive to the environment and to human health (water, ethanol and isopropanol) at three temperatures (25 °C, 35 °C and 55 °C); time (4 hours) and seed:solvent (1:5) ratio were previously fixed. Through this design, an increase in the total phenolic extraction of 20 mg/100 g was observed when isopropanol was used as a pure solvent at 35 °C to 1100 mg/100 g using the water:isopropanol mixture at 55 °C. The anthocyanin content of 1.11 mg/100 g in the extract obtained from water as a pure solvent at 35 °C, reached 6.89 mg/100 g when water and ethanol were used at 25 °C. The percentage of DPPH radical sequestration of the extracts ranged from 0.4% with isopropanol at 25 °C, to 91.3% in the extract obtained at 55 °C from the water/isopropanol mixture. The simplex-centroid design proved to be an efficient way to optimize the extraction process of total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity.

Keywords: Industrial waste. Bioactive compounds. Mixing surface. Alternative solvents.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1	Pitangueira.....	18
Figura 2	Pitanga.....	19
Figura 3	Tamarindeiro.....	21
Figura 4	Tamarindo (casca, fruto e sementes).....	21
Figura 5	Manga (<i>Mangifera indica</i> L. Var. Ubá).....	24
Figura 6	Semente de manga (Concha e amêndoa).....	25
Figura 7	Subdivisão das substâncias biologicamente ativas presentes nos vegetais.....	27
Figura 8	Estrutura química dos principais flavonoides.....	28
Figura 9	Planejamentos experimentais para o estudo de três componentes em rede simplex centróide design (SCD).....	33
ARTIGO 2		
Figura 1	Curva de nível para extrações da semente de tamarindo; (a) modelo cúbico reduzido para a concentração de compostos fenólicos totais no extrato obtido a 25°C; (b) modelo quadrático reduzido para a concentração de fenólicos totais no extrato obtido a 35°C; (c) modelo quadrático reduzido para a concentração de fenólicos totais no extrato obtido a 55°C.....	100
Figura 1	Curva de nível para extrações da semente de tamarindo; (a) modelo linear reduzido para a concentração de antocianinas no extrato obtido a 25°C; (b) modelo quadrático reduzido para a concentração de antocianinas no extrato obtido a 35°C; (c) modelo linear completo para a concentração de antocianinas no extrato obtido a 55°C.....	103
Figura 3	Curva de nível para extrações da semente de tamarindo; (a) modelo cúbico reduzido para a atividade antioxidante no extrato obtido a 25°C; (b) modelo quadrático reduzido para a atividade antioxidante no extrato obtido a 35°C; (c) modelo quadrático reduzido para a atividade antioxidante no extrato obtido a 55°C.....	106

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1	Composição centesimal das sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca.....	64
Tabela 2	Teor de minerais das sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca.....	67
Tabela 3	Teores de pectina total, pectina solúvel, amido, açúcares totais presentes nas sementes secas de tamarindo, manga e pitanga resultados expressos em base seca ²	68
Tabela 4	Teores de lignina, celulose, hemicelulose, FDN e FDA nas sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca ³	70
Tabela 5	Compostos fenólicos totais, carotenóides e antocianinas e capacidade antioxidante das sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca.....	71
Tabela 6	Compostos fenólicos determinados por CLAE expressos em mg /100 g de sementes seca.....	74
Tabela 7	Atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas...	75
ARTIGO 2		
Tabela 1	Valores médios de fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante por DPPH dos diferentes extratos obtidos por planejamento simplex-centróide, com misturas de água, etanol e isopropanol.....	98
Tabela 3	Modelos preditos para a concentração de compostos fenólicos dos extratos da semente de tamarindo nas diferentes temperaturas.....	99
Tabela 3	Modelos preditos para a concentração de antocianinas dos extratos da semente de tamarindo nas diferentes temperaturas.....	102
Tabela 4	Modelos preditos para atividade antioxidante nas diferentes temperaturas.....	105

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE.....	14
1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1	Pitanga.....	18
2.2	Tamarindo.....	20
2.3	Manga Ubá.....	23
2.4	Compostos Bioativos.....	25
2.5	Extração por solvente.....	29
2.6	Misturas.....	31
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....	48
	ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE SEMENTES DE PITANGA (<i>Eugenia uniflora</i> Linn.), MANGA (<i>Mangifera indica</i> Linn.) VARIEDADE UBÁ E TAMARINDO (<i>Tamarindus indica</i> Linn.).....	49
1	INTRODUÇÃO.....	52
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	54
2.1	Sementes dos frutos.....	54
2.2	Análises Químicas.....	55
2.2.1	Minerais.....	55
2.2.2	Amido.....	56
2.2.3	EXTRATO PARA DETERMINAÇÃO DE PECTINA TOTAL, SOLÚVEL E AÇÚCARES TOTAIS.....	56
2.2.3.1	Pectina total e solúvel.....	57
2.2.3.2	Açúcares totais.....	57
2.2.4	Determinação de lignina, celulose e hemicelulose por Van Soest.....	58
2.2.5	Preparo do extrato da semente para determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante.....	58
2.2.5.1	Determinação de fenólicos totais.....	59
2.2.5.2	Atividade antioxidante total pelo método de DPPH.....	59
2.2.6	Carotenóides.....	60

2.2.7	Antocianina monomérica.....	60
2.2.8	Perfil de Fenólicos.....	61
2.2.9	Peroxidase e polifenoloxidase.....	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
3.1	Análises Químicas.....	64
3.2	Minerais.....	67
3.3	Pectina total, solúvel, amido e açúcares totais.....	68
3.4	Lignina, celulose e hemicelulose.....	70
3.5	Fenólicos totais, Carotenóides, antocianinas e atividade antioxidante.....	70
3.6	Perfil de Fenólicos.....	73
3.7	Peroxidase e Polifenoloxidase.....	75
4	CONCLUSÃO.....	78
	REFERÊNCIAS.....	79
	ARTIGO 2 - PLANEJAMENTO DE MISTURA NA EXTRAÇÃO DE FENÓLICOS E ANTOCIANINAS DA SEMENTE DE TAMARINDO (<i>TAMARINDUS INDICA</i> LINN.).....	87
1	INTRODUÇÃO.....	90
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	93
2.1	Matéria-prima.....	93
2.2	Extração das sementes de tamarindo.....	93
2.2.1	Preparo do extrato, a partir do extrato bruto, para determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante.....	94
2.3	Métodos analíticos.....	95
2.3.1	Determinação de fenólicos totais.....	95
2.3.2	Atividade antioxidante total pelo método de DPPH.....	95
2.3.3	Antocianina monomérica.....	96
2.3.4	Planejamento Experimental.....	96
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	98
3.1	Fenólicos totais.....	99
3.2	Antocianinas.....	101
3.3	Atividade antioxidante.....	104
4	CONCLUSÃO.....	107
	REFERENCIAS.....	108

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

No processamento de frutas é comum a remoção e descarte das sementes e cascas (AYALA-ZAVALA et al., 2011; FERRARI; COLUSSI; AYUB, 2004; SILVA et al., 2014); por consequência, uma quantidade expressiva de resíduos sólidos é rejeitada (CHOPPA; SELVARAJ; ZACHARIAH, 2015; TOURNOUR et al., 2015). Contudo, estudos têm demonstrado que tais resíduos podem conter significativas quantidades de nutrientes e compostos bioativos, por vezes em teores mais elevados que a polpa (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; SILVA et al., 2014; SOONG; BARLOW, 2004). Os compostos bioativos estão associados à redução da incidência de diversas patologias e, com isso, há um grande interesse da comunidade científica em descobrir fontes acessíveis, (ALMEIDA et al., 2011; PURAVANKARA; BOGHRA; SHARMA, 2000; SILVA et al., 2014; TORRES-LEÓN et al., 2016; LARRAURI et al., 2016).

O tamarindo, (*Tamarindus indica* Linn.), Leguminosa, subfamília *Caesalpiniaceae* (KOMUTARIN et al., 2004; MAITI et al., 2004), é nativo da África e cultivado em vários países, incluindo Brasil (TSUDA et al., 1994). Suas sementes, conhecidas por conter fenólicos (6,54 g/kg) (TSUDA et al., 1994).

De origem indiana, a manga (*Mangifera indica* Linn.) é a sétima cultura frutífera mais plantada no mundo (EMBRAPA, 2000), e está entre as mais importantes frutas tropicais por ser nutritiva e ter boa aceitação (CHAKRAVERTY et al., 2003; KUGANESAN et al., 2017; THARANATHAN; YASHODA; PRABHA, 2006; TORRES-LEÓN et al., 2016; VEGA et al., 2013). A amêndoa presente na semente da manga apresenta compostos bioativos com elevada atividade antioxidante (TORRES-LEÓN et al., 2016).

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.), família *Myrteaceae*, é nativa da América do Sul; seu fruto é composto por cerca 80% de polpa e 20% de semente,

variando de acordo com a espécie (DIAS et al., 2011). Nas sementes, o total de fenólicos extraídos é maior que as quantidades encontradas no bagaço de uva em pó provindo das indústrias de vinho (YI et al., 2009). Na indústria as sementes da pitanga não possuem valor comercial e são descartadas (LIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2014).

O conhecimento da composição química de todas as partes das frutas (casca, polpa e semente) possibilitaria a utilização integral do alimento, aumentando seu valor agregado (ARAÚJO, 2016; EMBRAPA, 2003; VIEIRA et al., 2009).

A escolha do método de extração dos compostos, através de processos mecânicos ou por diferentes solventes, é um fator determinante nas características do produto (RODRIGUES; OLIVEIRA, 2010). Neste processo de escolha, diversas áreas de pesquisa têm buscado empregar os princípios da química verde, através da substituição de solventes derivados de petróleo pelos provenientes de fontes renováveis, como etanol, água, isopropanol (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012).

Misturas de solventes têm potencial para alterar a solubilidade e seletividade de componentes do extrato. A elaboração de misturas que favoreçam a extração de componentes específicos, conforme sua finalidade de uso, é uma alternativa bastante proveitosa (DAGOSTIN; CARPINÉ; CORAZZA, 2015).

Neste trabalho caracterizou-se as sementes de Pitanga (*Eugenia uniflora*), Manga Ubá (*Mangifera indica* Linn.) e Tamarindo (*Tamarindus indica* Linn.), identificando alguns compostos bioativos. A semente de Tamarindo (*Tamarindus indica* Linn.), caracterizada por maiores teores de antocianinas e atividade antioxidante, foi selecionada para o estudo do efeito do solvente e respectivas misturas na extração de compostos bioativos e determinação de atividade antioxidante utilizando a regra de mistura.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Pitanga

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.), compreendida na família *Myrteceae*, é nativa da América do Sul e pode ser encontrada na Argentina, Uruguai e Brasil (ANTUNES; RASEIRA; PEREIRA, 2007; BEZERRA et al., 2004). O nome da fruta, de origem tupi, significa vermelho (LIRA et al., 2007), conhecida ainda por surinam cherry ou brazilian cherry fruit (DUKE; BOGENSCHUTZ-GODWIN; OTTESEN, 1929). No passado, a fruta era cultivada apenas em ambiente doméstico. Atualmente passou a ser produzida e processada comercialmente (RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Apesar da pitangueira (Figura 1) ter boa adaptação e crescimento em diversas condições de clima e altitude, tem desenvolvimento ótimo em clima tropical quente e úmido e, nessas condições, a colheita ocorre duas vezes ao ano (LIRA et al., 2007).

Figura 1 – Pitangueira.



Fonte: <http://bybassan.blogspot.com.br/2012/10/pitangueira-em-flor.html>.

As folhas são utilizadas pela medicina popular no tratamento de diversas enfermidades como doenças respiratórias, verminoses e reumatismo (AURICCHIO et al., 2007). Foi observado que o extrato hidro alcoólico destas folhas tem ação antioxidante e vasorrelaxante, pode reduzir os níveis séricos de triglicérides e glicose, e também possui propriedades antibacterianas (OGUNWANDE et al., 2005).

O extrato da polpa apresentou efeitos semelhantes ao das folhas devido a presença de monoterpenos (75,3% dos compostos voláteis) (OLIVEIRA et al., 2006). Na polpa foram encontrados cálcio, fósforo, compostos fenólicos (carotenóides e antocianinas) e vitamina C. Dentre os carotenóides, o licopeno apresenta maior concentração, 32% do conteúdo total; observa-se também β -caroteno, β -criptoxantina, rubixantina entre outros (FILHO et al., 2008).

Em geral, o fruto (Figura 2) é composto por 80% de polpa e 20% de semente, mas esta proporção varia de acordo com a espécie (DIAS et al., 2011).

Figura 2 - Pitanga.



Fonte: http://produto.mercadolivre.com.br/MLB-701014095-mudas-de-pitanga-an-bh-mudas-_JM.

O extrato da semente apresenta alta atividade antioxidante (BAGETTI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2014), diversos compostos bioativos e atividade antimicrobiana (ANDRADE et al., 2009; SANTOS et al., 2015a). Seus compostos fenólicos possuem efeito protetor contra a doença Leishmaniose, através da inibição da enzima arginase, necessária no processo de proliferação do parasita (SANTOS et al., 2015a).

Na indústria as sementes não possuem valor comercial e são descartadas (LIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2014), no entanto, estes resíduos têm potencial para serem utilizados como fonte natural de antioxidantes, substâncias bioativas e nutrientes (BAGETTI et al., 2009; SANTOS et al., 2015a).

2.2 Tamarindo

O tamarindo, (*Tamarindus indica* Linn.), pertence à família das Leguminosas, subfamília *Caesalpinaceae* (KOMUTARIN et al., 2004; MAITI et al., 2004), nativo da África, naturalizado no Brasil e cultivado em vários países (TSUDA et al., 1994).

Árvore robusta com aproximadamente 25 metros de altura e tronco que pode chegar a 1 metro de diâmetro, a planta do tamarindo (Figura 3) possui folhas verde claro e flores hermafroditas (CÁCERES, 2003) que são normalmente consumidas como vegetais.

Figura 3 - Tamarindeiro



Fonte: <http://www.naturezabela.com.br/2013/03/>

A produção de frutos de tamarindo ocorre a partir dos quatro a seis anos de idade da planta, e pode ocorrer ao longo de 200 anos, a produção anual, por árvore, varia entre 100 a 200 kg (CÁCERES, 2003). Estes frutos (Figura 4) têm forma de vagem, indeiscente e alongada, são recobertos por uma casca lenhosa que se quebra facilmente quando ocorre o amadurecimento (CAVALCANTE, 1988).

Figura 4 - Tamarindo (casca, fruto e sementes).



Fonte: <http://www.purapolpa.com.br/v4/produtos.php>.

A polpa demonstrou propriedades digestiva e laxativa (KOMUTARIN et al., 2004). Em hamsters com hipercolesterolemia, o extrato etanólico da polpa pareceu reduzir em 50% os níveis de colesterol total, 73% do colesterol não HDL e 60% de triglicérides e, em contrapartida, houve um aumento de 61% nos níveis de HDL colesterol nesses animais (MARTINELLO et al., 2006).

Suas sementes possuem tegumento acastanhado e núcleo branco (MAITI et al., 2004), e contém polissacarídeos que, quando associados ao cloridrato de metformina, controlam a liberação do medicamento proporcionando efeito hipoglicemiante (NAYAK; PAL; SANTRA, 2014).

Nas sementes foi observada a presença de compostos fenólicos (LUZIA; JORGE, 2011; TSUDA et al., 1994), como flavonoides e taninos, (GUPTA; GUPTA, 2016). Em animais esse extrato reduziu os níveis de radicais livres, inflamação e os efeitos da artrite provocada por desgaste ósseo (SUNDARAM et al., 2015). Além disso, este extrato apresentou efeito imunomodulatório com possível atividade antitumoral (ARAVIND et al., 2012).

O extrato da semente foi testado sobre os efeitos induzidos pelo veneno da víbora-de-russell, apresentando inibição da atividade de enzimas responsáveis pelos primeiros efeitos do envenenamento, como lesão do tecido, inflamação e queda de pressão arterial, em quantidade proporcional à dose. Além do mais, o extrato neutralizou a degradação do fibrinogênio humano e a hemólise causada pelos efeitos indiretos do veneno. Também foi observada influência no tempo de coagulação, edema, hemorragia e efeitos miotóxicos incluindo letalidade induzidos pelo veneno, que foram neutralizados significativamente quando o extrato foi incubado com o veneno antes dos testes. Por outro lado, animais que receberam o extrato 10 minutos após a aplicação do veneno foram protegidos dos efeitos tóxicos. Pelo fato de inibir o efeito hidrolítico das enzimas, ele pode ser utilizado como tratamento alternativo à soroterapia e, além disso, como fonte rica de potenciais inibidores da PLA2, metaloproteinases, serino-proteases,

hialuronidases e 5'-nucleotidasas, enzimas envolvidas em diversas doenças fisiopatológicas humanas e animais (USHANANDINI et al., 2009). Waqas et al. (2017) pesquisaram o potencial antienvhecimento dos antioxidantes presentes no extrato etanólico de sementes de *Tamarindus*. A formulação apresentou declínio significativo nos parâmetros de escamação e rugosidade da pele após a aplicação.

2.3 Manga Ubá

A manga, *Mangifera indica* Linn., é de origem indiana e, possivelmente, conquistou o território mundial através das viagens realizadas por colonizadores europeus (EMBRAPA, 2000). Dentre as mais importantes frutas tropicais, é nutritiva e bem aceita (CHAKRAVERTY et al., 2003; KUGANESAN et al., 2017; THARANATHAN; YASHODA; PRABHA, 2006; TORRES-LEÓN et al., 2016; VEGA et al., 2013), sendo que no mundo é a sétima cultura mais plantada. Estima-se que esteja presente em 94 países (EMBRAPA, 2000).

No Brasil a cultura da manga ocupa uma área de 64 mil hectares plantados. O país chega a produzir 1 milhão de toneladas ao ano e Minas Gerais é o quarto maior produtor da fruta (EMBRAPA, 2016). No mercado internacional, das 154.211 toneladas de manga exportadas pelo Brasil, 45% vão para os Países Baixos, seguido por EUA (18,3%) e Espanha (12,7%) (EMBRAPA, 2016).

Cada variedade de manga apresenta características aromáticas decorrentes de seus compostos voláteis (BENJAKUL; PALIYATH, 2012). Além disto, a coloração da casca, sabor, valor nutritivo e composição química, variam de acordo com a região de cultivo (THARANATHAN; YASHODA; PRABHA, 2006).

A variedade Ubá (Figura 5), encontrada na região da Zona da Mata Mineira (BENEVIDES et al., 2008; EMBRAPA, 2000; VIEIRA et al., 2009) apresenta características físicas e químicas que facilitam sua aceitabilidade. É rica em vitaminas A e C, 14° Brix em sólidos solúveis e possui fibras macias e curtas. Por possuir alto rendimento industrial, a variedade é uma das favoritas para a produção de polpa (BENEVIDES et al., 2008). Com rendimento médio de 63 % de polpa, é boa alternativa a ser utilizada pela indústria de processamento de frutos.

Figura 5 - Manga (*Mangifera indica* L. Var. Ubá).



Fonte: https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-851234468-mudas-de-manga-uba-enxertadas-excelente-para-sucos-_JM

O consumo *in natura* da manga é bastante popularizado, ainda assim grande quantidade é processada e comercializada na forma de polpas congeladas, bebidas prontas, geleias e sorvetes, (NELSON et al., 2006).

Cascas e sementes (Figura 6), principais resíduos do processamento da manga, são descartadas podendo provocar impactos negativos ao ambiente (CHAKRAVERTY et al., 2003; KUGANESAN et al., 2017; TORRES-LEÓN et al., 2016; VIEIRA et al., 2009). Conforme a variedade da fruta, os subprodutos

gerados podem significar 35 a 55% de seu peso total (CHAKRAVERTY et al., 2003).

Figura 6 - Semente de manga (Concha e amêndoa).



Fonte: <https://www.youtube.com/watch?v=KnI6HGdw6zs>.

A amêndoa presente na semente da manga apresentou compostos bioativos com elevada atividade antioxidante. O uso deste ingrediente traria grandes vantagens econômicas à indústria, contribuindo para a diminuição das carências nutricionais, e reduzindo a quantidade de resíduos depositados no ambiente (TORRES-LEÓN et al., 2016)

Embora sejam necessários estudos mais aprofundados, o que se sabe até o momento sobre os resíduos industriais da variedade Ubá os caracteriza como potenciais ingredientes da alimentação humana e animal (VIEIRA et al., 2009).

2.4 Compostos Bioativos

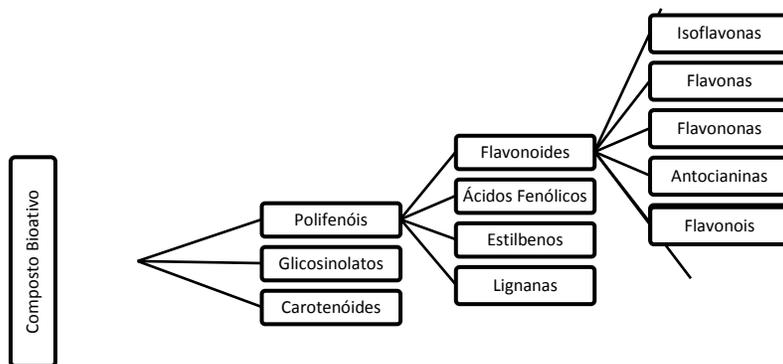
Pesquisas apontam que dietas ricas em produtos vegetais tendem a proteger o organismo contra diversas patologias (BIESALSKI et al., 2009; LIU,

2013; PATIL et al., 2009). Os compostos bioativos estão presentes naturalmente em vegetais (BIESALSKI et al., 2009) e são sintetizados como metabólitos secundários (CARRATÚ; SANZINI, 2005) e, geralmente, encontram-se em pequenas quantidades (KRIS-ETHERTON et al., 2002). Estas substâncias têm demonstrado benefícios à saúde que vão além do valor nutricional em si, como atividade antioxidante, antimicrobiana (ASIF et al., 2016; MELGAR et al., 2017; MOUHOUBI-TAFININE; OUCHEMOUKH; TAMENDJARI, 2016; YAO et al., 2016), anti-hiperglicêmica (SALEEM et al., 2017), proteção contra doenças cardiovasculares e câncer (BIESALSKI et al., 2009; KRIS-ETHERTON et al., 2002; LIU, 2013; PATIL et al., 2009).

Os compostos bioativos são heterogêneos, mas em geral são orgânicos, têm baixo peso molecular se comparados a macronutrientes e não são sintetizados pelo homem. Devido à grande quantidade dessas substâncias na natureza, são agrupadas em classes contendo milhares de compostos diferentes.

A Figura 7 mostra um diagrama esquemático com os compostos considerados mais significativos, baseado na literatura (CARRATÚ; SANZINI, 2005).

Figura 7 - Subdivisão das substâncias biologicamente ativas presentes nos vegetais.



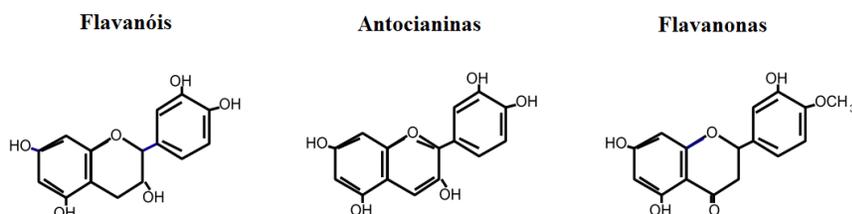
Fonte: CARRATÚ; SANZINI, (2005).

Polifenóis, ou compostos fenólicos, abrangem diversos compostos com uma característica química em comum: são derivados do benzeno com um ou mais grupos hidroxila associados ao anel, suas estruturas podem variar de uma única molécula a um polímero mais complexo (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; BRAVO, 1998) e ainda podem ser polares ou não polares (ALONSO-CARRILLO et al., 2017). Possuem anéis fenólicos, divididos em classes de acordo com o número de anéis e os elementos que os ligam (MATTHÄUS, 2002).

Os compostos fenólicos participam de diversas atividades da planta e são eles que determinam as características sensoriais dos vegetais (HADINEZHAD; ROWLAND; HOSSEINIAN, 2015). São fundamentais na fisiologia das plantas atuando na proteção contra microorganismos e insetos (CARRATÚ; SANZINI, 2005); estão entre os metabólitos vegetais mais comuns das dietas humana e animal. A atividade antioxidante (CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011) e o potencial de redução do estresse oxidativo têm forte relação com o conteúdo de fenólicos, por isso eles estão entre as substâncias bioativas mais desejadas nos alimentos (CORREIA et al., 2012).

Antocianinas são glicosídeos de natureza polar, portanto miscíveis em solventes como metanol, etanol e água. Pertencentes ao grupo dos flavonoides (Figura 8) apresentam coloração que varia do laranja ao azul; esses pigmentos têm sido vastamente aplicados como corantes naturais, pois não apresentam toxidez (MAT NOR; AROF, 2016).

Figura 8 - Estrutura química dos principais flavonoides.



Fonte: CARRATÚ; SANZINI, 2005.

Carotenóides são os compostos bioativos lipossolúveis mais abundantes na natureza (KAULMANN; BOHN, 2014); apresentam coloração que varia de amarelo ao vermelho. Têm função de precursor de vitamina A, demonstraram ter propriedades protetivas de doenças degenerativas, antioxidantes, antiapoptóticas e anti-inflamatórias (KAULMANN; BOHN, 2014; NAGAO, 2011), foram associados a menores incidências de câncer e doenças oftalmológicas. No entanto, em elevadas concentrações de carotenóides e oxigênio, betacaroteno comportou-se como pró-oxidante (JOMOVA; VALKO, 2013)

A utilização de alimentos de fácil acesso à população seria uma forma de garantir o consumo de compostos bioativos. A indústria de processamento de frutos gera meio bilhão de toneladas de resíduos no mundo. Considerando que cascas e sementes mostraram maior conteúdo de compostos bioativos que o tecido comestível, isto é, a polpa (ASIF et al., 2016; KIM et al., 2010; KUGANESAN et al., 2017), elas poderiam ser uma boa fonte para extração desses compostos (BANERJEE et al., 2017).

2.5 Extração por solvente

A transferência de massa no processo de extração é influenciada pelo tamanho da partícula, temperatura, pressão, agitação, umidade da semente, proporção entre semente e solvente, entre outros fatores (MEZIANE; KADI, 2008; OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013).

Temperaturas maiores favorecem o processo de extração através do aumento da solubilidade da mistura (AMARANTE et al., 2014). O tamanho das partículas deve ser mantido em uma faixa que permita que seja pequeno o suficiente para aumentar a superfície de contato, mas não deve ser reduzido ao ponto de ficar em suspensão e prejudicar a separação (PATRICELLI et al., 1980)

Segundo Johnson e Lusas (1983), é provável que nenhum solvente seja totalmente adequado, mas são consideradas características como não apresentar toxicidade, seletividade, baixa inflamabilidade, estabilidade, pureza e preço acessível.

A medida da polaridade de um solvente é baseada na constante dielétrica. É através deste parâmetro que se determina a interação entre soluto e solvente. Os solventes que se pretende usar neste trabalho apresentam as seguintes constantes dielétricas: 18,6 para isopropanol e 25,7 para etanol (TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012) e água 48 (BERBEJILLO, 2004).

A escolha do solvente deve se basear na fração de compostos que se deseja extrair. Considerando as diferentes capacidades dos solventes, os níveis de ácidos graxos, esteróis e tocoferóis extraídos com o óleo vão apresentar variação demonstrando diferenças na qualidade do produto extraído (TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012).

O emprego do etanol e isopropanol são boas alternativas, pois expõe a saúde humana e o ambiente a riscos menores de problemas operacionais

(OLIVEIRA et al., 2012). São polares, obtendo-se maior rendimento de compostos fenólicos em relação ao hexano (KRISHNAN et al., 2013).

O etanol não produz resíduos tóxicos, apresenta menor inflamabilidade e, por ser produzido abundantemente no Brasil, é economicamente viável (RODRIGUES, 2011). A temperatura de extração e teor de água no solvente influenciam na solubilidade do óleo neste solvente (JOHNSON; LUSAS, 1983). De forma que o quanto maior o teor de água no solvente ou na matéria-prima, menor a extração de sólidos solúveis, mas o aumento da temperatura dessa mesma mistura potencializa os níveis de extração (RODRIGUES, 2011). Aumento na temperatura, no tempo de extração e na relação solvente/sólidos de uma forma geral parece aumentar o rendimento de óleo (MEZIANE; KADI, 2008).

O isopropanol apresenta maior rendimento na extração de óleos que o etanol e mais estabilidade que o hexano. Essa maior estabilidade se deve à grande capacidade que o isopropanol tem de extrair compostos que combatem a oxidação lipídica, como vitamina E (TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012). Em altas temperaturas o isopropanol demonstrou extrair mais óleo que o hexano e, em concentração solvente/sólido de 3 partes de solvente para uma de sólido, obteve maior eficiência de extração de vitamina E que o hexano (ZIGONEANU et al., 2008).

Tanto etanol quanto isopropanol são mais eficientes quando utilizados em temperaturas próximas ao ponto de ebulição. O processo de separação pode ser realizado por abaixamento de temperatura, situação em que os óleos apresentam baixa solubilidade no solvente. Essa característica facilita o processo de separação, gastando 25-30% menos energia que a destilação por hexano (ABRAHAM; HRON; KOLTUN, 1988; FRANCO; SINEIRO; NÚÑEZ, 2009; JOHNSON; LUSAS, 1983).

Por serem de natureza polar, etanol e isopropanol, têm baixa capacidade de solubilizar óleo, no entanto extraem facilmente componentes polares da matriz. Alterações na pressão e/ou temperatura do processo, ou adição de cossolvente podem apresentar efeitos desejáveis no aumento da solubilidade dos lipídeos nestes componentes (DAGOSTIN; CARPINÉ; CORAZZA, 2015).

No processo de extração, a quantidade de solução aderida à matriz é conhecida como índice de retenção; este fator influencia no custo do processo (RODRIGUES; OLIVEIRA, 2010). Esse índice é influenciado pela viscosidade da mistura, tamanho da partícula e afinidade físico-química entre solução e matriz sólida. Já foi observado que etanol e isopropanol apresentam maior índice de retenção que hexano (WISNIAK; HILLEL; KATZ, 1987).

2.6 Misturas

Um experimento de misturas se diferencia de um fatorial simples porque depende de uma proporção dentro do conjunto, sendo que no experimento fatorial os componentes são independentes (WANG; FANG, 2010). Os experimentos que utilizam misturas de componentes de forma proporcional foram definidos por Scheffe (1963) da seguinte maneira: suponha que uma mistura é composta de q componentes e o i -ésimo componente contém x_i dele. Cada proporção do componente não pode ser negativa e a soma de todas as proporções tem que ser igual 1.

$$x_i \geq 0, \quad i=1, 2, \dots, q \quad \text{e} \quad \sum_i^q x_i = x_1 + x_2 + \dots + x_q = 1 \quad (1)$$

O espaço fatorial de qualquer experimento de mistura é reduzido em uma dimensão devido à restrição da equação (1); seu propósito é estudar o efeito de cada componente nas características de interesse, e busca encontrar as

proporções ideais de cada componente, de modo que os valores da resposta sejam ótimos.

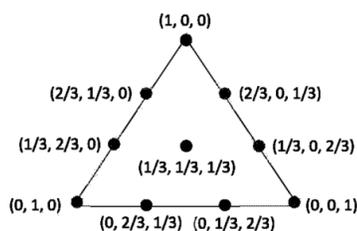
Para realizar um experimento de análise de mistura é necessário selecionar os pontos de design do experimento, em seguida deve-se escolher o modelo apropriado através de análise de variância e executá-lo para confirmar seu ajuste. Por fim, encontrar as proporções ideais dos componentes para obtenção do melhor resultado de respostas (SCHEFFE, 1963).

Simplex-centróide design é o delineamento onde os solventes usados na mistura podem se apresentar em quatro concentrações diferentes (0, 1/2, 1/3 e 1), a Figura 9 mostra os pontos do experimento delineado. Os vértices do triângulo correspondem ao solvente puro, os pontos médios nas laterais às combinações binárias, e o ponto central (centróide) é composto por combinações ternárias Scheffe 1963 (OUEDRHIRI et al., 2016).

Figura 4 - Planejamentos experimentais para o estudo de três componentes em rede simplex centróide design (SCD).

$$(x_1, x_2, x_3) = (1, 0, 0); (0, 1, 0); (0, 0, 1); \left(\frac{1}{3}, \frac{2}{3}, 0\right); \left(\frac{1}{3}, 0, \frac{2}{3}\right); \left(0, \frac{1}{3}, \frac{2}{3}\right);$$

$$\left(\frac{2}{3}, \frac{1}{3}, 0\right); \left(\frac{2}{3}, 0, \frac{1}{3}\right); \left(0, \frac{2}{3}, \frac{1}{3}\right); \left(\frac{1}{3}, \frac{1}{3}, \frac{1}{3}\right)$$



Experimentos	Componente 1	Componente 2	Componente 3
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	2/3	1/3	0
5	2/3	0	1/3
6	1/3	2/3	0
7	1/3	0	2/3
8	0	2/3	1/3
9	0	1/3	2/3
10	1/3	1/3	1/3

Fonte: COELHO, (2014).

A transferência de massa no processo de extração é influenciada pelo tamanho da partícula, temperatura, pressão, agitação, umidade da semente, proporção entre semente e solvente, entre outros fatores (MEZIANE; KADI, 2008; OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013).

Temperaturas maiores favorecem o processo de extração através do aumento da solubilidade da mistura (AMARANTE et al., 2014), e a presença de água nas sementes altera as propriedades do solvente (SANTOS et al., 2015b).

Coefficientes positivos para uma mistura indicam que dois componentes agem sinergicamente ou são complementares, o que significa que a soma dos parâmetros juntos é maior que a de cada um separadamente. Coeficientes

negativos indicam que os componentes são antagonistas, ou seja, os parâmetros da mistura são inferiores aos de cada componente separadamente (CASTRO; SATO, 2013).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As sementes dos frutos Tamarindo, Manga Ubá e Pitanga são fontes de nutrientes, compostos bioativos e fibras. Em vista disso, elas são fontes potenciais para a utilização no desenvolvimento de produtos alimentícios e farmacêuticos. Dessa forma, reduz-se os impactos ambientais de seu descarte e, conseqüentemente, aumenta o valor agregado à fruta.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, G.; HRON, R. J.; KOLTUN, S. P. Modeling the solvent extraction of oilseeds. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 65, n. 1, p. 129–135, 1988.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155–2159, 2011.

ALONSO-CARRILLO, N. et al. Extraction of phenolic compounds from *Satureja macrostema* using microwave-ultrasound assisted and reflux methods and evaluation of their antioxidant activity and cytotoxicity. **Industrial Crops and Products**, v. 103, n. September 2016, p. 213–221, 2017.

AMARANTE, R. C. A. et al. Oil extraction from castor cake using ethanol: Kinetics and thermodynamics. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 16, p. 6824–6829, 2014.

ANDRADE, C. A. S. et al. Comparison of the interfacial properties of *Eugenia uniflora* and *Triticum vulgare* lectins. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 68, n. 1, p. 7–12, 2009.

ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. DO C. B.; PEREIRA, J. F. M. III Simpósio Nacional do Morango e II Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. **Documentos** 203, v. 1, p. 1–293, 2007.

ARAÚJO, A. C. M. A. Obtenção do óleo de sementes dos frutos do cerrado pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) e murici (*Byrsonima crassifolia*) utilizando diferentes solventes no processo de extração. 2016. 118 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

ARAVIND, S. R. et al. Antitumor and Immunopotentiating Activity of Polysaccharide PST001 Isolated from the Seed Kernel of *Tamarindus indica* : An In Vivo Study in Mice. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1–14, 2012.

ASIF, A. et al. Therapeutic potentials of bioactive compounds from mango fruit wastes. **Trends in Food Science and Technology**, v. 53, p. 102–112, 2016.

AURICCHIO, M. et al. Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 1, n. 26, p. 76-81, 2007.

AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1866–1874, 2011.

BAGETTI, M. et al. Antioxidant capacity and composition of pitanga seeds. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2504–2510, 2009.

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

BANERJEE, J. et al. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. **Food Chemistry**, v. 225, p. 10–22, 2017.

BENEVIDES, S. D. et al. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 571–578, 2008.

BENJAKUL, S.; PALIYATH, G. **Food Biochemistry and Food Processing**. Second Edi ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2012.

BERBEJILLO, J. Química analítica. p. 81, 2004.

BEZERRA, J. E. F. et al. Comportamento da pitangueira (*Eugenia uniflora* L) sob irrigação na região do vale do Rio Moxotó, Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 177–179, 2004.

BIESALSKI, H. K. et al. Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. **Nutrition**, v. 25, n. 11–12, p. 1202–1205, 2009.

BRAVO, L. Polyphenols : Chemistry , dietary sources , metabolism , and nutritional significance. **Nutrition Review**, v. 56, n. 11, p. 317, 1998.

CÁCERES, M. C. Estudo do processamento e avaliação da estabilidade do “Blend” misto a base da polpa de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) e suco de beterraba (*beta vulgaris*). **Universidade Estadual de Campinas**, p. 1-124, 2003.

CARRATÚ, B.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. **Annali dell’Istituto Superiore di Sanita**, v. 41, n. 1, p. 7–16, 2005.

CASTRO, R. J. S.; SATO, H. H. Synergistic effects of agroindustrial wastes on simultaneous production of protease and α -amylase under solid state fermentation using a simplex centroid mixture design. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 813–821, 2013.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. p. 279. Edição 4. Editora: Museu Paraense Emílio Goeldi. Belo Horizonte, 1988.

CHAKRAVERTY, A. et al. Handbook of postharvest technology: Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices. **Handbook of postharvest technology**, nona edicao, editora marcel dekker p. 856, Nova Iorque, 2003.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: Concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615–8627, 2012.

CHOPPA, T.; SELVARAJ, C. I.; ZACHARIAH, A. Evaluation and Characterization of Malabar Tamarind [*Garcinia cambogia* (Gaertn.) Desr.] Seed Oil. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 9, p. 5906–5913, 2015.

COELHO, M. S. Otimização de múltiplas respostas na extração de metabólitos especiais de folhas secas de *Eucalyptus badjensis* beuzev. & welch, myrtaceae, através do planejamento de misturas do tipo simplex-centroid e análise de superfície de resposta. 05.07. p., 94. Dissertação (Mestrado, área de concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2047–2053, 2011.

CORREIA, R. T. P. et al. Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. **Food science and technology international = Ciencia y tecnología de los alimentos internacional**, v. 18, n. 6, p. 539–47, 2012.

DAGOSTIN, J. L. A.; CARPINÉ, D.; CORAZZA, M. L. Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: Kinetics and thermodynamics. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 69–75, 2015.

DIAS, A. B. et al. Variabilidade e caracterização de frutos de pitangueiras em municípios Baianos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 1169–1177, 2011.

DUKE, J. A.; BOGENSCHUTZ-GODWIN, M. J.; OTTESEN, A. R. **Medicinal Plants of Latin America**. Boca Raton, FL: CRC Press - Taylor & Francis Group, 1929.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA - EMBRAPA. **MANGA. Produção: Aspectos Técnicos**. Série Frutas do Brasil, 4. 1^a ed. Brasília - DF, 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA - EMBRAPA. **Iniciando um Pequeno Grande Negócio Agroindustrial: Polpa e Suco de Frutas**. Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, n. 21, p. 1–123, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA - EMBRAPA. **Base de dados dos produtos**. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_xls/Mundo/manga/manga_mundo.htm>. Acesso em: 19 ago. 2017.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 101–102, 2004.

FILHO, G. L. et al. Supercritical CO₂ extraction of carotenoids from pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 46, n. 1, p. 33–39, 2008.

FRANCO, D.; SINEIRO, J.; NÚÑEZ, M. J. Analysis of variables and modeling of gevuina avellana oil extraction with ethanol near azeotrope conditions. **Journal of Food Process Engineering**, v. 32, n. 5, p. 664–681, 2009.

GUPTA, R.; GUPTA, J. Investigation of Antidiarrhoeal Activity of. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 492–496, 2016.

HADINEZHAD, M.; ROWLAND, O.; HOSSEINIAN, F. The Fatty Acid Profile and Phenolic Composition of *Descurainia sophia* Seeds Extracted by Supercritical CO₂. **JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 92, n. 9, p. 1379–1390, 2015.

JOHNSON, L. A.; LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 2, p. 229–242, 1983.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 70, p. 102–110, 2013.

KAULMANN, A.; BOHN, T. Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. **Nutrition Research**, v. 34, n. 11, p. 907–929, 2014.

KIM, H. H. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 429–436, 2010.

KOMUTARIN, T. et al. Extract of the seed coat of *Tamarindus indica* inhibits nitric oxide production by murine macrophages in vitro and in vivo. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 649–658, 2004.

KRIS-ETHERTON, P. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American journal of medicine**, v. 113 Suppl, n. 1, p. 71S–88S, 2002.

KRISHNAN, R. K. et al. Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 3, p. 326–332, 2013.

KUGANESAN, A. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Peels , Pulps and Seed Kernels of Three Common Mango (*Magifera indica* L.) Varieties in Sri Lanka. **Ijpsr**, v. 8, n. January, p. 77, 2017.

LARRAURI, M. et al. Chemical characterization and antioxidant properties of fractions separated from extract of peanut skin derived from different industrial processes. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 964–971, 2016.

LIRA, J. S. DE et al. **Pitangueira**. Empresa Pernambucana de .Pesquisa Agropecuária-IPA, 1ª ed. Recife, PE, 2007.

LIU, R. H. Dietary bioactive compounds and their health implications. **Journal of Food Science**, v. 78, n. SUPPL.1, 2013.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Antioxidant activity, fatty acid profile and tocopherols of *Tamarindus indica* L. seeds. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 497–501, 2011.

MAITI, R. et al. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, n. 1, p. 85–91, 2004.

MARTINELLO, F. et al. Hypolipemic and antioxidant activities from *Tamarindus indica* L. pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 6, p. 810–818, 2006.

MAT NOR, N. A.; AROF, A. K. On statistical analysis of factors affecting anthocyanin extraction from *Ixora siamensis*. **Optical Materials**, v. 60, p. 462–466, 2016.

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

MELGAR, B. et al. By-product recovery of *Opuntia* spp. peels: Betalainic and phenolic profiles and bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 107, n. June, p. 353–359, 2017.

MEZIANE, S.; KADI, H. Kinetics and thermodynamics of oil extraction from olive cake. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, n. 4, p. 391–396, 2008.

MOUHOUBI-TAFININE, Z.; OUCHEMOUKH, S.; TAMENDJARI, A. Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 85–90, 2016.

NAGAO, A. Absorption and metabolism of dietary carotenoids. **BioFactors**, v. 37, n. 2, p. 83–87, 2011.

NAYAK, A. K.; PAL, D.; SANTRA, K. Tamarind seed polysaccharide-gellan mucoadhesive beads for controlled release of metformin HCl. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, n. 1, p. 154–163, 2014.

NELSON, F. et al. **A Cultura da Manga**. EMBRAPA, 2^a ed. v. 53, p. 1-73, 2006.

ODABA, I.; KOCA, I. Application of response surface methodology for optimizing the recovery of phenolic compounds from hazelnut skin using different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 114–124, 2016.

OGUNWANDE, I. A. et al. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **International Journal of Aromatherapy**, v. 15, n. 3, p. 147–152, 2005.

OLIVEIRA, A. L. et al. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 1–5, 2006.

OLIVEIRA, A. L. et al. Isolation by pressurised fluid extraction (PFE) and identification using CPC and HPLC/ESI/MS of phenolic compounds from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 145, p. 522–529, 2014.

OLIVEIRA, R. et al. Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol - A response surface approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 1, p. 22–31, 2012.

OLIVEIRA, R. C. DE; BARROS, S. T. D. DE; GIMENES, M. L. The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 458–463, 2013.

OUEDRHIRI, W. et al. Mixture design of *Origanum compactum*, *Origanum majorana* and *Thymus serpyllum* essential oils: Optimization of their antibacterial effect. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 1–9, 2016.

PATIL, B. S. et al. Bioactive compounds: Historical perspectives, opportunities and challenges. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8142–8160, 2009.

PATRICELLI, A. et al. Factors affecting the extraction of lipids from shelled sunflower seeds. **Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, v.56, n. 4, p. 136-142, 1980.

PEREIRA, A. L. F. et al. Antioxidant effect of mango seed extract and butylated hydroxytoluene in bologna-type mortadella during storage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 135–140, 2011.

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, n. 4, p. 522–526, 2000.

RODRIGUES, C. E. DA C. Utilização de solvente biorenovável nos processos de extração e desacidificação de óleos vegetais. **Universidade de São Paulo**, p. 1-172, 2011.

RODRIGUES, C. E. DA C.; OLIVEIRA, R. Response surface methodology applied to the analysis of rice bran oil extraction process with ethanol. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 4, p. 813–820, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al.. **Fontes Brasileiras de carotenóides**. Ministério do Meio Ambiente -MMA Brasília, 2008.

SALEEM, F. et al. Phenolic bioactives and associated antioxidant and anti-hyperglycemic functions of select species of Apiaceae family targeting for type 2 diabetes relevant nutraceuticals. **Industrial Crops and Products**, n. June, p. 0–1, 2017.

SANTOS, D. N. et al. Arginase inhibition, antibacterial and antioxidant activities of Pitanga seed (*Eugenia uniflora* L.) extracts from sustainable technologies of high pressure extraction. **Food Bioscience**, v. 12, p. 93–99, 2015a.

SANTOS, D. N. E. et al. Study of supercritical extraction from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.) with bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, n. April, p. 365–374, 2015b.

SCHEFFE, H. The Simplex-Centroid Design for Experiments with Mixtures
Author (s): Henry Scheffe Source : Journal of the Royal Statistical Society .
Series B (Methodological), Vol . 25 , No . 2 Published by : Wiley for the Royal
Statistical Society Stable URL : ht. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, v. 25, n. 2, p. 235–263, 1963.

SILVA, L. M. R. DA et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398–404, 2014.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, n. 3, p. 411–417, 2004.

SUNDARAM, M. S. et al. Tamarind seed (*Tamarindus indica*) extract ameliorates adjuvant-induced arthritis via regulating the mediators of cartilage/bone degeneration, inflammation and oxidative stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. November 2014, p. 1–13, 2015.

THARANATHAN, R. N., YASHODA, H. M. AND PRABHA, T. N., “Mango (*Mangifera indica* L.) the king of fruits an overview”. **Food Reviews International**, 22, 95–123, 2006.

TIR, R.; DUTTA, P. C.; BADJAH-HADJ-AHMED, A. Y. Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, n. 12, p. 1427–1438, 2012.

TORRES-LEÓN, C. et al. Mango seed: Functional and nutritional properties. **Trends in Food Science and Technology**, v. 55, p. 109–117, set. 2016.

TOURNOUR, H. H. et al. Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 397–406, 2015.

TSUDA, T. et al. Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 12, p. 2671–2674, 1994.

USHANANDINI, S. et al. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza radix* and its bioactive compounds. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. April 2006, p. 851–858, 2009.

VEGA, V. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of byproduct extracts of mango fruit. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 86, p. 205–211, 2013.

VIEIRA, P. A. F. et al. Caracterização Química Do Resíduo Do Processamento Agroindustrial Da Manga (*Mangifera Indica* L.) Var. Ubá. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, p. 617–623, 2009.

WAQAS, M. K. et al. Fabrication of *Tamarindus indica* seeds extract loaded-cream for photo-aged skin: Visioscan® studies. **Postepy Dermatologii i Alergologii**, v. 34, n. 4, p. 339–345, 2017.

WANG, P. S.; FANG, J. J. The optimization of medicine formulation using mixture experiments. **Internacional MultiConference of Engineering and Computer Scientists**, v. 3, n.2, p.6, 2010.

WISNIAK, J.; HILLEL, J.; KATZ, O. Holdup and extraction characteristics of jojoba meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 9, p. 1352–1354, 1987.

YAO, X. H. et al. Different harvest seasons modify bioactive compounds and antioxidant activities of *Pyrola incarnata*. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 405–412, 2016.

YI, C. et al. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 570–576, 2009.

ZIGONEANU, I. G. et al. Determination of antioxidant components in rice bran oil extracted by microwave-assisted method. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4910–4918, 2008.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

**CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS
BIOATIVOS DE SEMENTES DE PITANGA (*Eugenia uniflora* Linn.),
MANGA (*Mangifera indica* Linn.) VARIEDADE UBÁ E TAMARINDO
(*Tamarindus indica* Linn.).**

RESUMO

Para uma exploração sustentável do resíduo do processamento de frutos, tais como as sementes que podem ser fontes de macronutrientes e compostos bioativos, a fase de caracterização é fundamental. O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química das sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* Linn.), manga (*Mangifera indica* Linn.) variedade Ubá e tamarindo (*Tamarindus indica* Linn.) e quantificar potenciais compostos bioativos e atividade antioxidante. Todas as sementes apresentaram altos valores de carboidratos (tamarindo: 72,06 g/100 g; manga: 80,32 g/100 g; pitanga: 86,02 g/100 g), energia (tamarindo: 423,42 kcal/100 g; manga: 446,07 kcal/100 g; pitanga: 403,91 kcal/100 g) e atividade antioxidante pelo método DPPH expresso em % de sequestro de radicais livres (tamarindo: 96,85%; manga: 97,95%; pitanga: 87,90%). Das sementes analisadas, as de tamarindo se destacaram pelas elevadas concentrações de proteínas (14,4 g/100 g), antocianinas (57,92 mg/100 g), elevados níveis de minerais e baixa atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. A semente com maiores rendimentos de lipídeos (9,21 g/100 g) e do composto fenólico ácido gálico foi a de manga. As sementes de pitanga, com 268,29 mg EAG/ g, foram as mais ricas em compostos fenólicos totais. As sementes das frutas analisadas, resíduos do processamento destes, têm potencial para extração de micro e macronutrientes bem como de compostos bioativos.

Palavras-chave: Composição centesimal. Antocianinas. Fenólicos totais. DPPH. Subprodutos.

ABSTRACT

For a sustainable exploitation of fruit processing waste, such as seeds, which may be sources of macronutrients and bioactive compounds, the characterization phase is critical. The objective of this study was to evaluate the chemical composition of pitanga (*Eugenia uniflora* Linn.), 'Ubá' mango (*Mangifera indica* Linn.) and tamarind (*Tamarindus indica* Linn.) seeds and to quantify potential bioactive compounds and antioxidant activity. All seeds showed high values of carbohydrates (tamarind: 72.06 g/100 g; mango: 80.32 g/100 g; pitanga: 86.02 g/100 g), energy (tamarind: 423.42 kcal/100 g; mango: 446.07 kcal/100 g; pitanga: 403.91 kcal/100 g) and antioxidant activity by the DPPH method, expressed as the % of free radical sequestration (tamarind: 96.85%; mango: 97.95%; pitanga: 87.90%). From the seeds analyzed, tamarind seeds stood out, showing high concentrations of proteins (14.4 g/100 g), anthocyanins (57.92 mg/100 g), high levels of minerals and low activity of peroxidase and polyphenol oxidase. The seed with the highest yields of lipids (9.21 g/100 g) and the phenolic compound gallic acid was mango. Pitanga seeds, with 268.29 mg EAG/g, were the richest in total phenolic compounds. The seeds of the analyzed fruits, waste from their processing, have potential for extraction of micro- and macronutrients, as well as bioactive compounds.

Keywords: Proximate composition. Anthocyanin. Total phenolic. DPPH. By-products.

1 INTRODUÇÃO

No processamento de frutas há, em geral, a remoção de cascas e sementes (AYALA-ZAVALA et al., 2011), gerando toneladas de resíduos sólidos. Entretanto, o aproveitamento integral das frutas é de fundamental importância para o desenvolvimento econômico e redução dos impactos ambientais na geração de renda (DAMIANI et al., 2012, DAMIANI et al., 2013; KUSKOSKI et al., 2006; SANTOS; SILVA, 2012; SILVA et al., 2014a; SOUZA et al., 2013). Além do mais, a associação do consumo de compostos bioativos e redução na incidência de patologias têm despertado, na comunidade científica, o interesse pela investigação de novas e acessíveis fontes destas substâncias (ALMEIDA et al., 2011; PURAVANKARA; BOGHRA; SHARMA, 2000; RUFINO et al., 2010; SILVA et al., 2014b; TORRES-LEÓN et al., 2016).

Tamarindo (*Tamarindus indica* Linn.) é uma Leguminosa, (KOMUTARIN et al., 2004; MAITI et al., 2004) nativa da África (TSUDA et al., 1994). Apresenta polpa com propriedades digestiva, laxativa (KOMUTARIN et al., 2004), antioxidante (TSUDA et al., 1994), hipocolesterolemiantes (MARTINELLO et al., 2006) e antidiabética (MAITI et al., 2004). Suas sementes, resíduos da indústria da polpa, são ricas em fitoquímicos (TSUDA et al., 1994), in vitro seu extrato reduziu a peroxidação lipídica (TSUDA et al., 1993, TSUDA et al., 1994).

A manga (*Mangifera indica* Linn.), originária da Índia (EMBRAPA, 2000), é uma das mais importantes frutas tropicais devido ao sabor agradável e elevado teor nutricional (CHAKRAVERTY et al., 2003; KUGANESAN et al., 2017; THARANATHAN; YASHODA; PRABHA, 2006; TORRES-LEÓN et al., 2016; VEGA et al., 2013). A quantidade de resíduos gerados pelo seu processamento industrial está relacionada à variedade do fruto (35 a 55 % do peso total) (CHAKRAVERTY et al., 2003). A amêndoa contida na semente

apresentou compostos bioativos com elevada atividade antioxidante (TORRES-LEÓN et al., 2016). A variedade Ubá, abundante na região da Zona da Mata Mineira, tem polpa rica em vitaminas, sólidos solúveis, e apresenta fibras macias e curtas. Devido ao alto rendimento industrial, é bastante utilizada pela indústria (BENEVIDES et al., 2008).

Fruto pertencente à família *Myrteaceae*, a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é nativa da América do Sul, composta por cerca 80% de polpa e 20% de semente, sendo que essa proporção apresenta variações de acordo com a espécie (DIAS et al., 2011). Das sementes é possível extrair fitoquímicos (YI et al., 2009) com atividade antioxidante, (SANTOS et al., 2015b) e antibacteriana (SANTOS et al., 2015a); contudo, elas ainda não possuem valor comercial e, na maioria das vezes, são descartadas (LIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2014).

Há nesses resíduos um potencial para exploração, pois em muitos aspectos eles apresentam maiores teores de nutrientes e compostos bioativos que as respectivas polpas (ANDRADE et al., 2012; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; KIM et al., 2010; KUGANESAN et al., 2017; SILVA et al., 2014b; SOONG; BARLOW, 2004). Também parecem não demonstrar a toxicidade e os efeitos colaterais observados pelos antioxidantes sintéticos adicionados aos alimentos, cosméticos e fármacos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; KUGANESAN et al., 2017). Diante destas considerações, pretendeu-se com este trabalho caracterizar as sementes de Pitanga (*Eugenia uniflora*), Manga Ubá (*Mangifera indica* Linn.) e Tamarindo (*Tamarindus indica* Linn.) e identificar seus compostos bioativos como perfil de compostos fenólicos e atividade antioxidante através de ensaios bioquímicos in vitro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Sementes dos frutos

Os frutos de pitanga, produzidos na zona rural do município de Guapé – MG, foram colhidos em dezembro de 2016; procedeu-se a remoção da polpa, higienização e congelamento das sementes (-18°C) no dia da colheita, posteriormente foram transportadas congeladas para a Universidade Federal de Lavras.

As sementes de tamarindo, resíduo da produção de polpa de fruta no Instituto Federal do Triangulo Mineiro – Uberaba, foram coletadas entre os meses de outubro e novembro de 2016. Após a separação pela despoldadeira, as sementes foram congeladas a -18°C, e encaminhadas à Universidade Federal de Lavras em caixas com isolamento térmico.

Os frutos de manga Ubá foram colhidos município de Lavras-MG, entre dezembro de 2016 e janeiro de 2017. As sementes (concha e amêndoa) foram congeladas no momento em que foram separadas da polpa e transportadas para a Universidade Federal de Lavras. A retirada da amêndoa do interior da concha ocorreu no momento em que foi procedida a secagem em estufa a vácuo.

Todas as sementes foram obtidas por meio de doação. Após o recebimento na Universidade Federal de Lavras, foram higienizadas e acondicionadas em congelador a -45°C. O preparo, para uso nas análises, se procedeu com secagem em estufa a vácuo sob temperatura de 45°C até peso constante (pressão absoluta = 16 kPa; Tecnal, modelo TE-395, Piracicaba, SP, Brasil). Exceto para as sementes que foram utilizadas para as análises de composição centesimal (secas a 105° C até peso constante) e atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase (não foram submetidas ao processo de

secagem). Após a secagem, as sementes foram trituradas em moinho com cuba refrigerada (Tecnal, modelo TE-631-3).

2.2 Análises Químicas

As análises para caracterização das sementes foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio padrão. As determinações analíticas do teor de umidade, lipídeos, proteínas, cinzas e fibras foram realizadas de acordo com a metodologia oficial da AOAC (2005), e os carboidratos quantificados por diferença. O cálculo do valor calórico estimado das sementes utilizou o fator de conversão de 4 kcal g⁻¹ para proteína e carboidrato e 9 kcal g⁻¹ para lipídeos (ATWATER; ROSA, 1899).

2.2.1 Minerais

Foram realizadas análises de Nitrogênio, Potássio, Fósforo, Cálcio, Magnésio, Enxofre, Cobre, Zinco, Manganês e Ferro. Para determinação dos níveis de minerais, as amostras foram preparadas por digestão orgânica e um tratamento com uma mistura de ácido nítrico e ácido perclórico (2:1, v/v) adicionado às amostras homogeneizadas em triturador de amostras (Turrattec TE-102 Tecnal), 21.500 rpm por 5 minutos (SALINAS; GARCÍA, 1985). Para determinar a concentração de cálcio, ferro, zinco, magnésio, cobre e manganês foi utilizado um espectrofotômetro de absorção atômica, um fotômetro de chama usado para determinação de potássio (768 nm) e um espectrofotômetro de luz visível foi utilizado para determinação de fósforo (420 nm).

2.2.2 Amido

O amido presente nas sementes foi determinado por espectrofotometria, segundo método de Somogy adaptado por Nelson (1944). Para a extração foram pesadas 5 gramas de amostra em Erlenmeyer, adicionado 0,5 gramas de carbonato de cálcio e 80 mL de solução água-etanol (30:70, v:v). Levou-se ao banho fervente, foi colocado um bastão de vidro em cada Erlenmeyer e realizou-se o refluxo por 1 hora. Após este período de 1 hora, as amostras permaneceram em repouso por 15 horas e, em seguida, filtradas em papel filtro, sendo que todo o resíduo foi lavado com 30 mL de Álcool etílico 95%. Em seguida, o resíduo que ficou no papel filtro foi transferido para Erlenmeyer de 250 mL com 80 mL de água destilada e 3 gotas de NaOH 10%. Os Erlenmeyers foram tampados com gazes e levados a autoclave na temperatura de 120°C por 1 hora. Após a retirada das amostras da autoclave, foram adicionados 2,5 mL de HCl concentrado e as amostras foram novamente para a autoclave a 120°C por 30 minutos. Após resfriados, os extratos foram neutralizados para pH 7,0 e os volumes completados para 100 mL com água destilada (NELSON, 1944).

A leitura foi realizada em espectrofotômetro, comprimento de onda de 620 nm e os resultados expressos em gramas de amido por 100 g de semente em base seca (% de amido presente).

2.2.3 Extrato para determinação de pectina total, solúvel e açúcares totais

Pesou-se 5,000 gramas de amostra em potes de polietileno com tampa e adicionando 80 mL de solução aquosa de etanol (95:5, v:v), homogeneizou-se em triturador de amostras (Turrattec TE-102 Tecnal), 21.500 rpm por 5 minutos. Posteriormente, os potes foram fechados e levados para mesa agitadora orbital (SL 180/A, Solab) a 200 rpm, durante 1 hora. Aguardou-se 15 horas em

temperatura ambiente e procedeu-se a filtragem em papel filtro (Whatman 185 mm), transferindo o líquido para Erlenmeyer de 500 mL, utilizando-se solução aquosa de etanol (95:5, v:v) para remoção de todo o resíduo presente no recipiente.

2.2.3.1 Pectina total e solúvel

Foi realizada a extração da pectina total e solúvel segundo a técnica descrita por McCready e McComb (1952), determinadas colorimetricamente, segundo Bitter e Muir (1962), e os resultados expressos em mg de ácido galacturônico por 100 g de semente seca.

2.2.3.2 Açúcares totais

Os açúcares totais presentes nas sementes secas foram determinados pelo método de Antrona (9,10-dihidro-9-oxoanthracena) (DISCHE, 1962), que se baseia na ação hidrolítica e desidratante do ácido sulfúrico concentrado sobre os carboidratos, resultando em um produto de coloração verde. Primeiramente, foi construída a curva-padrão de glicose anidro. Em seguida foram preparados os tubos contendo 1 mL de amostra (extrato preparado conforme item 2.2.3) e 2 mL de reagente Antrona que permaneceram em banho-maria fervente por 10 minutos e, posteriormente, foram resfriados. Foi feita a quantificação por espectrofotometria a um comprimento de onda 620 nm, e os resultados expressos em (g de glicose.100g⁻¹ de semente seca).

2.2.4 Determinação de lignina, celulose e hemicelulose por Van Soest

A determinação de teores de lignina, celulose e hemicelulose foram feitas de acordo com as metodologias propostas por Van Soest (1963). FDN isola celulose, hemicelulose e lignina, enquanto FDA isola celulose e lignina. Assim, hemicelulose é estimada através da diferença entre FDN e FDA, lignina e celulose são quantificadas sequencialmente pela diferença nos pesos dos cadinhos antes e após incineração na determinação de FDA.

2.2.5 Preparo do extrato da semente para determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante

Os extratos das sementes de pitanga, manga e tamarindo foram obtidos baseando-se na metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com adaptações. Amostras de 1 g das sementes secas e trituradas foram extraídas com 20 mL de solução aquosa de metanol 50% (1:1, v:v) e deixada em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi centrifugada a 14.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi recuperado e adicionado 20 mL de solução acetona/água (70%, v/v) ao resíduo, foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora à temperatura ambiente e, em seguida, centrifugado a 14.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante coletado foi adicionado ao primeiro sobrenadante e o volume completado para 50 mL com água destilada (RUFINO et al., 2007).

2.2.5.1 Determinação de fenólicos totais

O conteúdo fenólico total foi determinado de acordo com o método adaptado de Folin-Ciocalteu (SAUCIER; WATERHOUSE, 1999). Os extratos das sementes (0,5 mL) foram misturados com 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de solução de carbonato de sódio (4%). A mistura foi agitada a 200 rpm e mantida à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Após 2 horas, foi medida a absorvância, a 750 nm, usando espectrofotômetro. Soluções aquosas de ácido gálico foram usadas para construção da curva de calibração. Os resultados foram expressos em gramas de ácido gálico equivalentes (EAG) por 100 g de semente seca.

2.2.5.2 Atividade antioxidante total pelo método de DPPH

Na determinação da atividade antioxidante foi empregada a metodologia baseada na extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH 60 μ M), proposta por Rufino et al. (2007) com adaptações em relação ao cálculo, estimando-se o percentual de sequestro do radical livre DPPH com relação ao controle.

Para a determinação da capacidade antioxidante foram adicionados 0,1 mL do extrato das amostras das sementes dos frutos a 3,9 mL de solução de DPPH. Para o controle foram adicionados 0,1 mL de metanol juntamente ao DPPH, no lugar do extrato. As leituras foram realizadas, a cada 30 minutos até a estabilização, em espectrofotômetro a 515 nm e os resultados expressos em percentual de sequestro de radicais livres.

2.2.6 Carotenóides

Os carotenóides foram extraídos das sementes dos frutos e quantificados de acordo com o método proposto por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Para a extração, a cada 1,000 grama de amostra de semente foi adicionada acetona, e a mistura resultante submetida á agitação durante 1 h a 200 rpm. Posteriormente, as amostras foram lavadas três vezes com acetona e filtradas a vácuo. Um volume de 45 mL de éter de petróleo foi vertido em um funil de separação. A solução de pigmentos em éter de petróleo foi transferida para um frasco volumétrico e completada a um volume final de 100 mL com éter de petróleo. A análise das amostras foi feita em espectrofotômetro em comprimento de onda de 450 nm para β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Os resultados foram expressos em mg de β -caroteno ou licopeno por 100g de semente seca.

2.2.7 Antocianina monomérica

A determinação de antocianinas nas sementes foi de acordo com metodologia descrita por Francis (1972). Em balança analítica, pesou-se 1,0000 grama da amostra integral, homogeneizada em triturador de amostras (Turratec TE-102 Tecnal), 21.500 rpm por 5 minutos, na qual foram adicionados 25 mL de solução aquosa de HCl 1,5 M (85:15, v:v), encubando por 1 hora em temperatura ambiente. Filtrou a mistura e completou o volume, em balão volumétrico, para 50 mL com a solução de etanol:HCl 1,5M, e após esse procedimento foi efetuada a leitura, a 535 nm, em espectrofotômetro (Varian, Cary 50 Scan). A quantificação de antocianinas totais baseou-se no coeficiente de absorção molar da cianidina-3-glicosídeo por 100 gramas de amostra (equação 1), a qual representa a principal antocianina presente em frutos.

$$C = \frac{Abs}{\epsilon \cdot l} \quad (1)$$

Onde:

Abs = Absorbância

ϵ = Coeficiente de absorção molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) = 982

C = Concentração em mol/L

l = Caminho ótico em cm

2.2.8 Perfil de Fenólicos

Os compostos fenólicos presentes foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Anteriormente à análise os extratos foram preparados com 2,5 gramas das sementes secas, acrescidos de 20 mL de solução de água: metanol (30:70, v:v), a mistura foi homogeneizada em triturador de amostras (Turrtec TE-102 Tecnal), 21.500 rpm por 5 minutos, posteriormente, permaneceu por 60 min em banho ultrassônico à temperatura ambiente. Depois, as amostras passaram por processo de centrifugação a 1400 g por 15 minutos a 4°C e filtradas em papel de filtro Whatman nº 2 (RAMAYA et al., 2013).

Cromatógrafo líquido de alta eficiência por detecção de diodo (HPLC DAD/UV-Vis), coluna C18, 5 μm (250 mm por 4,6 mm) foi utilizado para a identificação e quantificação dos compostos fenólicos do extrato. Utilizaram-se as seguintes fases móveis: 2 % de ácido acético em água (Fase móvel A) e 70:28:2 de metanol/água/ácido acético, respectivamente (Fase móvel B). A vazão volumétrica foi de 1,0 mL/min e o tempo de corrida de 65 minutos, o volume injetado da amostra foi 20 μL e as análises conduzidas à temperatura 15 °C. Utilizou-se, para a detecção, o comprimento de onda 280 nm e os padrões: ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, ácido cafeico, vanilina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico e transcinâmico. As soluções padrões foram preparadas em metanol grau HPLC e as curvas de calibração obtidas com injeções em

duplicatas de cinco concentrações. Na análise em HPLC, os compostos fenólicos foram identificados comparando o tempo de retenção com os dos padrões puros. Os resultados foram expressos em mg do composto fenólico/100g de semente.

2.2.9 Peroxidase e polifenoloxidase

As sementes destinadas a esta análise não passaram por secagem, para que a atividade das enzimas não fosse reduzida. As amostras de sementes foram trituradas em processador utilizando nitrogênio líquido.

As enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) foram extraídas seguindo a metodologia descrita por Matsuno e Uritani (1972). Tomou-se 10 gramas de semente e completou-se o volume com 50 mL de tampão fosfato, na concentração de 0,05 M, pH 7,0, para manter o pH favorável à atividade enzimática. Homogeneizou-se a mistura em Politron durante 3 minutos e posterior filtração num funil em papel Whatman nº1. O homogeneizado foi centrifugado por 10 min a 10.000 rpm e o sobrenadante resultante utilizado para a determinação da atividade enzimática.

De acordo com o método sugerido por Teisson (1979) para a determinação da PPO foi acrescida uma alíquota de 1 mL do extrato enzimático obtido a 3,6 mL de tampão fosfato pH 7,0 (0,1 M) e 0,1 mL de catecol 10 mM. A solução obtida foi incubada por 30 min a 30 °C e a reação interrompida pela adição de 1,6 mL de ácido perclórico 2 N. A atividade da PPO foi expressa em unidade (atividade enzimática capaz de alterar 0,001 de absorbância a 395nm) por grama de semente fresca por minuto ($U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$).

A determinação da atividade da POD realizou-se de acordo com o método descrito por Matsuno e Uritani (1972). Foi pipetada uma alíquota de 3 mL de extrato enzimático obtido sobre uma solução, contendo 5 mL de tampão fosfato citrato pH 5 (0,02 M), 0,5 mL de peróxido de hidrogênio 3% e 0,5 mL de

guaiacol. A solução, incubada a 30 °C por 5 min, foi interrompida pela adição de 1 mL de bissulfito de sódio 30%. A atividade da POD é expressa em unidade (atividade capaz de alterar 0,001 de absorbância a 470 nm) por grama de semente fresca por minuto ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises Químicas

Na Tabela 1 estão os valores médios da composição centesimal, com base na matéria seca das sementes de tamarindo, manga e pitanga.

Tabela 1 - Composição centesimal das sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca.

	Composição Centesimal (%) ¹		
	Tamarindo	Manga	Pitanga
Extrato Etéreo	4,68±0,02	9,21±0,04	0,78±0,04
Proteína	14,40±0,31	6,27±0,64	6,68±0,36
Cinza	1,75±0,04	1,92±0,02	2,31±0,07
Fibra	7,11±0,59	2,27±0,34	4,21±0,81
Fração Não Nitrogenada	72,11±0,25	80,74±0,79	86,28±0,8
Umidade	40,99±0,25	46,65±0,57	49,01±0,07

¹Valores da média ± desvio padrão de três replicatas.

Fonte: Da autora.

Numa revisão da literatura sobre a composição das sementes das frutas, foram relatados diferentes valores que podem ser influenciados por diversos fatores, como método analítico, o momento da colheita, maturidade, variedade, condições de clima e solo, exposição ao sol, localização dos frutos na planta e manuseio pós-colheita (AMIRA et al., 2011).

O percentual de proteína bruta contido nas sementes de tamarindo, segundo Marangoni, Alli e Kermasha (1988), foi de 15,5%. O feijão, conhecida fonte de proteína vegetal apresenta valores a partir de 19% deste macronutriente

(REZENDE et al., 2017). Os teores de proteína das sementes de tamarindo sugerem que estas podem ser utilizadas na alimentação humana ou animal.

A elevada proporção de fração não nitrogenada na semente de tamarindo também foi obtida por Marangoni, Alli e Kermasha (1988), que relataram 59,4 %, os autores observaram 8% de fibra bruta.

Das sementes analisadas, as de manga foram significativamente mais ricas em lipídeos. Na matéria seca de diversas variedades de semente de manga, foram observados por Odunsi (2005) 13,6%, Elegbede e Achoba (1995) 12,8 %, Nzikou et al. (2010) o valor de 13% e Ashoush e Gadallah (2011) 8,15%. O ácido graxo mais abundante na amêndoa desta fruta é o esteárico, 46,3%, e pode apresentar função comercial na elaboração de produtos estáveis em elevadas temperaturas, tendo potencial para aproveitamento na indústria química, alimentícia ou cosmética (ELEGBEDE; ACHOBA; RICHARD, 1995).

Em relação aos teores de proteína bruta das sementes de manga, Nzikou et al. (2010) obtiveram 6,36%, valores similares aos de Odunsi (2005), Elegbede, Achoba e Richard (1995) de 6,16 % e 6,0 %, respectivamente. Diarra (2014), analisando a viabilidade de inserir a semente de manga na alimentação de aves, verificou que, além de possuir de 6 a 10 % de proteína bruta, tem um bom perfil de aminoácidos essenciais.

Elegbede e Achoba (1995) observaram em mangas Nigéria, um teor de 2% de cinzas. Odunsi (2005), analisando a mesma variedade de semente de manga encontrou 2,32% de cinzas.

O valor energético da semente de manga segundo análise de Elegbede, Achoba e Richard (1955) foi de 440 kcal/100g, Yatnatti, Vijayalakshmi e Chandru (2014) constatou em sementes de manga um valor energético de 421 kcal/100 g. A farinha de semente de manga tem sido recomendada para consumo humano como fonte energética e de antioxidantes (ABDALLA et al., 2007; ASHOUSH; GADALLAH, 2011).

Embora os teores de lipídeos das sementes de pitanga tenham se apresentado significativamente inferiores, comparando-se às demais sementes analisadas neste estudo, Luzia, Bertanha e Jorge (2010) observaram, no extrato etanólico da semente de pitanga, elevada porcentagem de ácidos graxos insaturados, característica favorável ao uso para fins comestíveis e farmacêuticos.

Autores de trabalhos anteriores obtiveram rendimento de proteína, para as sementes de pitanga, entre 3,7% (BAGETTI et al., 2009) e 8,81% (LUZIA; BERTANHA; JORGE, 2010). Em estudo feito com frutos brasileiros não convencionais, Luzia e Jorge (2014) obtiveram teores de proteínas para sementes secas de graviola, jabuticaba, cagaita e pitanga de 12,21%, 6,26%, 7,22% e 8,76%, respectivamente.

As sementes de pitanga apresentaram valor energético de 406,45 kcal/100 g, na matéria seca, com base nas porcentagens de carboidratos, proteínas e lipídeos encontrados por Luzia, Bertanha e Jorge (2010), valor próximo ao encontrado neste estudo (403,91 kcal/100 g).

Comparando-se as sementes analisadas neste estudo, em relação à composição centesimal, observa-se que manga e pitanga apresentaram quantidades semelhantes de proteínas, enquanto as de tamarindo tiveram rendimento superior. Nas três amostras, o componente presente em maior proporção foi a fração não nitrogenada.

Em base seca, as sementes de manga apresentaram o maior valor energético (446,07 kcal/100 g), seguida das sementes de tamarindo (423,42 kcal/100 g) e, por último, a de pitanga (403,91 kcal/100 g).

3.2 Minerais

As composições de minerais, incluindo nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), manganês (Mn), zinco (Zn) e ferro (Fe) das sementes estão na Tabela 2. Os resultados são expressos nas mesmas unidades observadas, para a ingestão diária recomendada, DRI (Dietary Reference Intakes), dos respectivos elementos (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

Tabela 2 - Teor de minerais das sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca.

Minerais	Tamarindo	Manga	Pitanga	DRI¹
N (g/100g)	2,3	0,84	1,00	
P (mg/100 g)	200	140	130	580 mg/dia
K (g/100 g)	0,65	0,55	1,10	4,7 g/dia
Ca (g/100 g)	0,05	0,06	0	1 g/dia
Mg (mg/100 g)	190	200	110	265 mg/dia
S (g/100 g)	0,15	0,11	0,13	
B (mg/ 100 g)	0,41	0,3	0,33	20 mg/dia
Cu (µg/100 g)	760	571	547	700 µg/dia
Mn (mg/100 g)	0,83	2,96	0,84	1,8 mg/dia
Zn (mg/100 g)	2,98	0,76	1,14	6,8 mg/dia
Fe (mg/100 g)	3,02	1,85	1,74	8,1 mg/dia

⁰⁰⁰¹ DRI (Dietary Reference Intakes): Ingestão diária recomendada para mulher adulta 31 aos 50.

Fonte: Da autora.

Não existe DRI estipulada para enxofre, este elemento é componente de aminoácidos como metionina, cistina e cisteína, também como parte das moléculas antioxidantes da glutathione peroxidase (SYLVIA, 2012).

O teor de cobre em 100 gramas de semente de tamarindo superou a ingestão diária recomendada para esse mineral. Sendo que Glew et al. (2005) encontraram valores ainda maiores de cobre, sendo 909 µg/100 g.

Okello et al. (2017) observaram que a composição mineral das sementes de tamarindo é maior na semente que na polpa; o autor sugere que o consumo da semente do tamarindo auxilia no combate de deficiências de minerais como zinco, ferro, cálcio e magnésio.

Dentre os minerais verificados na semente de manga, o magnésio apresentou-se em valores próximos à recomendação, enquanto o manganês está em teores que superam a ingestão diária recomendada. Elegbede et al. (1995) encontraram concentrações de minerais nas amêndoas de manga iguais a 50 mg de cálcio /100 g, 0,36 g de potássio /100 g, e 100 mg de magnésio /100 g e 140 mg de fósforo /100 g.

Ferro, selênio, cobre, zinco e manganês são considerados minerais antioxidantes por garantir a atuação de determinadas enzimas que combatem o estresse oxidativo no organismo humano (RIBEIRO; SCHIEBER, 2010), como a catalase. O valor de minerais encontrados nas sementes analisadas é interessante para, junto com outros ingredientes, atingir a ingestão diária recomendada de alguns destes minerais.

3.3 Pectina total, solúvel, amido e açúcares totais

Tabela 3 tem-se os teores de compostos das sementes, entre os quais pectina total, pectina solúvel, amido, açúcares totais.

Tabela 3 - Teores de pectina total, pectina solúvel, amido, açúcares totais presentes nas sementes secas de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca².

	Tamarindo	Manga	Pitanga
Açúcares Totais (%)	9,41±0,05	0,81±0,02	2,31±0,53
Pectina Total (%)	3,83±0,02	1,82±0,02	2,66±0,25
Pectina Solúvel (%)	0,95±0,01	1,76±0,03	0,73±0,003
Amido (%)	11,68±0,48	14,39±1,00	13,75±0,47

²Valores da média ± desvio padrão de três replicatas.

Fonte: Da autora.

A pectina é naturalmente encontrada na parede celular e nas camadas intercelulares de plantas, capaz de formar géis na presença de açúcar, ácido ou íons cálcio (FENNEMA, 1996). As fontes mais comumente utilizadas comercialmente são os albedos cítricos e o bagaço de maçã. Por apresentar características diversas, dependentes da fonte que é extraída, sua obtenção a partir de resíduos industriais tem sido investigada (MUNHOZ; SANJINEZ-ARGANDOÑA; SOARES-JÚNIOR, 2010). Extensamente explorada na elaboração de doces e geleias, a goiaba apresenta teor médio de pectina total de 7,63% (SPILLER, 2012).

O amido é o principal carboidrato digerível encontrado nos vegetais, e devido à sua propriedade de gelatinização, sua aplicação vai além da indústria alimentícia. Alimentos como arroz branco, lentilha e farinha de trigo apresentam, respectivamente, 85,8, 44,5 e 76,2% de amido (BEDNAR et al., 2001).

3.4 Lignina, celulose e hemicelulose

Na Tabela 4, estão listadas as proporções de fibra encontradas nas sementes.

Tabela 4 - Teores de lignina, celulose, hemicelulose, FDN e FDA nas sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca³.

	FDN	FDA	Lignina %	Celulose %	Hemicelulose %
Tamarindo	29,37±0,75	12,05±0,54	6,26±0,08	5,79±0,60	17,32±0,26
Manga	76,10±0,11	8,36±0,54	1,70±0,55	6,66±0,55	67,74±0,44
Pitanga	54,15±0,93	6,41±0,97	2,97±0,77	3,44±0,72	47,74±1,80

³ Valores da média ± desvio padrão de três replicatas.

Fonte: Da autora.

A fibra é, em geral, composta pela parede celular dos vegetais na qual se encontram os polímeros como celulose, hemicelulose lignina, proteína e compostos minoritários. (JÚNIOR et al., 2007).

Pode-se inferir que as sementes analisadas no presente estudo, no que diz respeito à porcentagem de fibras, poderiam ser empregadas na alimentação de ruminantes. Pois, as proporções de fibras encontradas para as sementes neste trabalho são semelhantes à recomendação de ingestão na alimentação de ruminantes.

3.5 Fenólicos totais, Carotenóides, antocianinas e atividade antioxidante

Na Tabela 5 são apresentados os teores de fenólicos totais, carotenóides, antocianinas e atividade antioxidante avaliada pelo método de

sequestro de radicais DPPH e expresso em percentual de extinção de radicais livres.

As fontes de compostos fenólicos são as frutas, vegetais folhosos, alho, cebola (FRANCKI, VALESKA MANGINI; GOLLÜCKE, 2005), chá verde, entre outros. O chá-verde, por exemplo, apresenta teores de compostos fenólicos entre 23,75 e 65,71 mg EAG/g (FIRMINO; MIRANDA, 2015), quantidade inferior à observada nas sementes de tamarindo, manga e pitanga (Tabela 5).

Os subprodutos gerados do processamento de alimentos têm mostrado elevado teor de compostos bioativos, bem como alta atividade antioxidante (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Na semente de abacate o teor de compostos fenólicos pode chegar a 40 mg EAG/L na matéria integral (SEGOVIA; CORRAL-PÉREZ; ALMAJANO, 2016), e no bagaço de cana foi reportado 18 mg EAG/100 mg na matéria seca (ZHENG et al., 2017).

Tabela 5 - Compostos fenólicos totais, carotenóides e antocianinas e capacidade antioxidante das sementes de tamarindo, manga e pitanga, resultados expressos em base seca.

	Fenólicos totais ^a	Carotenóides ^b	Antocianinas ^c	DPPH ^d
Tamarindo	122,29±0,70	1,57±0,01	57,92±0,16	96,85±0,01
Manga	167,51±0,68	1,34±0,01	1,81±0,04	97,95±0,00
Pitanga	268,29±0,95	5,52±0,14	2,48±0,18	87,90±0,01

^a Fenólicos totais expressos em mg de EAG/g de semente seca.

^b Carotenóides expressos em g de $\mu\beta$ -caroteno/g de semente seca.

^c Antocianinas expressas em equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g de semente seca.

^d DPPH expresso em % de extinção de radicais livres.

*Resultados expressos pela média e desvio padrão.

Fonte: Da autora.

Ribeiro et al (2010) encontraram para a mesma variedade de manga analisada neste estudo a concentração de 82,5 mg de EAG/g. O teor de fenólicos

totais da semente de manga mostrou-se superior ao apresentado pela polpa dessa mesma fruta (5,45 mg EAG/g) (KUSKOSKI et al.,2006).

Em estudo realizado por Luzia, Bertanha e Jorge (2010), com sementes de pitanga, o teor de compostos fenólicos foi de 75,64 mg EAG/g de amostra. Bagetti et al. (2009) obtiveram 25 mg EAG/g de amostra. Silva et al. (2014b) observaram que os subprodutos (casca, bagaço e sementes) dessa fruta tiveram rendimento de 126,9 mg EAG/g, enquanto a polpa rendeu 39,6 mg EAG/g.

Analisando polpa e sementes frescas de abacate, jaca, pitomba, manga e tamarindo, Soong e Barlow (2004) encontraram os maiores valores de compostos fenólicos para as sementes de manga (117 mg EAG/g), seguido pelas sementes de tamarindo (94,5 mg EAG/g). Os autores observaram que as sementes desses frutos apresentaram maior rendimento de compostos fenólicos e atividade antioxidante que a polpa.

Estudos têm demonstrado correlação positiva entre teor de fenólicos e atividade de sequestro de radicais DPPH nas matérias-primas analisadas (BAGETTI et al., 2009; KUSKOSKI et al., 2006; YI et al., 2009). Porém, a estrutura, o número e posição do grupo hidroxila interferem na atividade antioxidante destes componentes (CARRATÚ; SANZINI, 2005). Yi et al. (2009), caracterizando resíduos de uva provenientes da produção de vinho, encontraram teores de fenólicos totais entre 2,5 e 4,7 mg EAG/ g de amostra.

A cenoura, fonte conhecida de carotenóides, apresenta 79,26 µg/g (MEDEIROS; KWIATKOWSKI; CLEMENTE, 2011), Bezerra et al. (2000), analisando a polpa da pitanga, encontraram valores de carotenóides de 225,9 µg/g. Em comparação dos dados encontrados com os teores de carotenóides das sementes analisadas, entende-se que sementes de manga, pitanga e tamarindo não são fontes ricas desse componente.

A semente de tamarindo destacou-se no teor de antocianina monomérica com o valor médio de 57,92 equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g. Yi et

al. (2009) observaram no resíduo de uva valores entre 131 mg/100 g e 302 mg/100 g. Kuskoski et al. (2006) encontraram em polpas congeladas de frutas os teores de 41,8 mg/100 g para amora, 30,9 mg/100 g para uva, 23,7 mg/100 g para o morango, 22,8 mg/100 g para o açai, 16 mg/100 g para a acerola e 2,7 mg/100 g para a goiaba, na matéria fresca. Esses autores relataram forte correlação entre os valores de atividade antioxidante, analisada por DPPH, ao conteúdo total de antocianinas, sendo este um indicativo de que o teor de antocianina pode ser contribuinte na atividade antioxidante.

A atividade antioxidante pelo método DPPH, apresentada pelas sementes, foi de 96,24 % para sementes de tamarindo, 97,95 % nas sementes de manga e 87,89 % para a pitanga. A porcentagem de atividade antioxidante para semente de pitanga obtida por Luzia, Bertanha e Jorge (2010) foi de 92,15%. Resíduos de uva utilizadas na produção de vinho possuem atividade antioxidante entre 63,3% (DPPH) e 84,1 Mm TE/100g (atividade antioxidante equivalente a Trolox) (YI et al., 2009).

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que as sementes de tamarindo, manga e pitanga são ricas em compostos fenólicos, sendo obtidos valores superiores aos de fontes conhecidas como polpa de uva (1,17 mg EAG/g) e açai (1,37 mg EAG/g) (KUSKOSKI et al., 2006). Desta forma, acredita-se que os extratos destas sementes possam ter potencial para utilização na indústria alimentícia e/ou farmacêutica.

3.6 Perfil de Fenólicos

As concentrações dos compostos fenólicos, determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), expressos em mg/100g de sementes, estão na Tabela 6.

Tabela 6 - Compostos fenólicos determinados por CLAE expressos em mg /100 g de sementes seca.

Compostos Fenólicos	Tamarindo	Manga	Pitanga
Ácido gálico	1,68±0,02	98,69±0,75	19,55±0,19
Catequina	nd	3,23±0,030	nd
Ácido clorogênico	1,04±0,07	nd	nd
Ácido cafeico	0,63±0,02	nd	nd
Vanilina	nd	7,85±0,06	nd
Ácido p-cumárico	0,24±0	nd	nd
Ácido Ferúlico	nd	1,07±0,18	nd
Transcinâmico	nd	0,65±0,01	nd
Total	3,59	111,48	19,55

*Resultados expressos pela média e desvio padrão.

Fonte: Da autora.

O fenólico identificado em todas as sementes foi o ácido gálico, este composto juntamente com seus derivados apresenta propriedades antioxidantes (BARBOSA, 2010; GARUD; KULKARNI, 2018; YADAV et al., 2017), antimicrobiana e antimutagênica (BARBOSA, 2010).

O principal fenólico presente nas sementes de manga, segundo Puravankara et al. (2000), é ácido gálico. As sementes de pitanga apresentaram, em análise conduzida por Oliveira et al. (2014), ácido elágico pentosídeo, ácido elágico ramnosídeo, quercetina e kaempferol pentosídeo. Estes compostos não foram quantificados no presente estudo por não haver padrões disponíveis.

Os valores de fenólicos totais observados para cada semente através do método Folin-Ciocalteu (Tabela 5) foram superiores aos obtidos por cromatografia (Tabela 6). A causa pode estar relacionada ao fato de que o primeiro método utiliza a espectrofotometria, que não é discriminatória e detecta todos os grupos fenólicos contidos na amostra. Na análise cromatográfica, por sua vez, não foram quantificados os fenólicos que não possuam o padrão.

Testando possíveis efeitos positivos da adição do extrato metanólico da semente de manga a produtos alimentícios, Abdalla et al. (2007) observaram

aumento da estabilidade do óleo de girassol e de batatas fritas frescas, e a redução das condições de crescimento para bactérias contaminantes do leite pasteurizado. Os autores atribuíram este efeito ao alto conteúdo de compostos fenólicos, e ao perfil de ácidos graxos apresentado pelo extrato. Grande parte dos efeitos antioxidante das plantas é devido ao seu alto teor de compostos fenólicos (SOONG; BARLOW, 2004).

3.7 Peroxidase e Polifenoloxidase

As atividades enzimáticas da peroxidases e polifenoloxidases das sementes frescas dos frutos estão na Tabela 7.

Tabela 7 - Atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidases.

	Polifenoloxidase (U.g⁻¹. min⁻¹)	Peroxidase (U.g⁻¹. min⁻¹)
Tamarindo	7,88±0,08	13,88±0,35
Manga	30,71±0,04	75,07±1,67
Pitanga	35,51±1,49	148,33±1,80

*Resultados expressos pela média e desvio padrão.

Fonte: Da autora.

A enzima peroxidase usa o peróxido como substrato, enquanto a polifenoloxidase oxida fenóis. A peroxidase, embora seja capaz de degradar pigmentos, não está relacionada diretamente à degradação dos alimentos, mas é bastante utilizada como indicador de tratamento térmico adequado em frutas e vegetais, uma vez que é altamente resistente ao calor. Polifenoloxidase é uma das enzimas mais abundantes nos vegetais e pode catalisar escurecimento enzimático nesses alimentos, com consequente redução de lisina e antocianinas (FENNEMA, 1996).

A atividade da enzima peroxidase mais elevada foi na semente de pitanga, com 148,33 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$), seguida pela semente de manga com 75,07 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) e tamarindo 13,88 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Em relação a polifenoloxidase, sementes de manga e pitanga apresentaram valores próximos de 30,71 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) e 35,51 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$), respectivamente, enquanto para o tamarindo obteve-se 7,88 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$).

Na soja foi observada atividade de enzima polifenoloxidase de 18 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) e peroxidase de 12 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) (KUMAR et al., 2015). As sementes de oliva, estudadas por Garcia-Rodriguez et al. (2011), demonstraram 20,8 ($\text{U.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) de peroxidase e valores desprezíveis de polifenoloxidase. Comparando aos valores obtidos nesse estudo, é possível afirmar que pitanga e manga apresentam altas atividades enzimáticas.

O processo de secagem das sementes é importante porque inativa enzimas capazes de degradar compostos bioativos, e reduz as possibilidades de crescimento microbiano. Para que não haja diminuição na capacidade antioxidante do material, o método de secagem precisa ser escolhido criteriosamente (TORRES-LEÓN et al., 2016), garantido a inativação de enzimas indesejáveis e, por outro lado, evitando a degradação dos compostos de interesse.

Considera-se que a secagem na temperatura de 45°C até peso constante tenha sido eficiente para a inativação enzimática, pois há uma relação inversa entre temperatura e tempo de aquecimento necessário à inativação da polifenoloxidase e da peroxidase (LUIZ; HIRATA; CLEMENTE, 2007).

As sementes analisadas mostraram potencial de aplicação na obtenção de nutrientes, sendo que pesquisas adicionais, acerca dessas sementes como a presença de substâncias antinutricionais e a biodisponibilidade dos nutrientes encontrados, devem ser realizadas para que se afirme, com segurança, qual a melhor aplicabilidade desses produtos.

Além da caracterização das propriedades nutricionais e funcionais, é recomendável que sejam realizadas análises de mercado. Os resíduos podem ser usados diretamente ou como farinhas após a redução de componentes antinutricionais, caso estejam presentes, ou pela extração dos compostos de interesse, tais como a extração dos compostos bioativos e macronutrientes.

4 CONCLUSÃO

As sementes secas apresentaram valores energéticos elevados e semelhantes entre si, mas os teores de lipídeos mais altos foram os da semente de manga. A semente de tamarindo apresentou o maior percentual de proteínas e a de pitanga o maior percentual de carboidratos (extrato não nitrogenado).

As sementes são ricas em compostos fenólicos, sendo os maiores valores encontrados nas sementes de pitanga, e observando-se os valores das sementes de manga e tamarindo próximos. Dentre os compostos fenólicos quantificados, o ácido gálico esteve presente nas três sementes, com maiores valores na manga. Esse mesmo fenólico foi o único quantificado na semente de pitanga.

As três amostras apresentaram baixos teores de carotenóides. Os valores de antocianina monomérica também foram baixos, exceto para o tamarindo que obteve elevado valor deste componente.

Em relação à análise de minerais, o tamarindo, apresentou maiores teores de nitrogênio, fosforo, cobre, zinco e ferro, enquanto a manga se destacou por maiores concentrações de manganês, magnésio e cálcio, e a pitanga teve mais potássio que as demais.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. E. M. et al. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1141–1152, 2007.
- ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155–2159, 2011.
- AMIRA, E. A. et al. Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1744–1754, 2011.
- ANDRADE, J. M. D. M. et al. Comparison of the fatty acid profiles of edible native fruit seeds from Southern Brazil. **International Journal of Food Properties**, v. 15, n. 4, p. 815–822, 2012.
- ASHOUSH, I. S.; GADALLAH, M. G. E. Utilization of Mango Peels and Seed Kernels Powders as Sources of Phytochemicals in Biscuit. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, v. 6, n. 1, p. 35–42, 2011.
- ATWATER, W. O.; ROSA, E. B. The Physical Review. In: PRESS, P. (Ed.). . **A Respiration Calorimeter: With appliances for the direct determination of oxygen**. 3. ed. Washington, D.C.: Carnegie Institution of Washington, v. IXp. 129–166, 1905.
- AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1866–1874, 2011.
- BAGETTI, M. et al. Antioxidant capacity and composition of pitanga seeds. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2504–2510, 2009.

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

BARBOSA, V., F. Caracterização do perfil da ação do ácido gálico e seus derivados sobre processos oxidativos in vitro e ex vivo. 2010. 82 f. Dissertação (mestrado, área de concentração: Bioquímica) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/87981>>.

BEDNAR, G. E. et al. Starch and Fiber Fractions in Selected Food and Feed Ingredients Affect Their Small Intestinal Digestibility and Fermentability and Their Large Bowel Fermentability In Vitro in a Canine Model. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 2, p. 276–286, 2001.

BEZERRA, J. E. et al. Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) Série Frutas Nativas. **Embrapa Mandioca e Fruticultura, aboticabal: FUNEP**, 30 p. 2000.

BENEVIDES, S. D. et al. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 571–578, 2008.

BITTER, B; MUIR, H. M. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 4, p. 330-334, 1962.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CARRATÚ, B.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanita**, v. 41, n. 1, p. 7–16, 2005.

CHAKRAVERTY, A. et al. Handbook of postharvest technology: Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices. **Handbook of postharvest technology**, nona edicao, editora marcel dekker p. 856, Nova Iorque, 2003.

DAMIANI, C. et al. Study of the shelf-life of a mixed araçá (*Psidium guineensis* Sw .) and marolo (*Annona crassiflora* Mart .) jam. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 2, p. 334–343, 2012.

DAMIANI, C. . et al. Changes in the physicochemical and microbiological properties of frozen araçá pulp during storage [Alterações físico-químicas e microbiológicas de polpa congelada de araçá durante a estocagem]. **Food Science and Technology**, v. 33, n. SUPPL.1, p. 19–27, 2013.

DIAS, A. B. et al. Variabilidade e caracterização de frutos de pitangueiras em municípios Baianos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 1169–1177, 2011.

DISCHE, Z. **General Color Reactions**. In: R. L. Whistler and M. L. Wolfram, Eds., 187 Carbohydrate Chemistry. Academic Press, New York, 477-512, 1962.

ELEGBEDE, J. A.; ACHOBA, I. I.; RICHARD, H. Nutrient Composition of Mango (*Mangnzfem Indica*) Seed Kernel From Nigeria. **Journal of Food Biochemistry**, v. 19, n. 1996, p. 391–398, 1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA - EMBRAPA. **MANGA. Produção: Aspectos Técnicos**. Frutas do Brasil, 4, 1ª ed. Brasília - DF, 63p. 2000.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3ª ed. New York, New York , Marcel Dekker, 1996.

GARCIA-RODRIGUEZ, R. et al. Role of polyphenol oxidase and peroxidase in shaping the phenolic profile of virgin olive oil. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 265-635, 2011.

FIRMINO, L. A.; MIRANDA, M. P. S. Polifenóis totais e flavonoides em amostras de chá verde (*Camellia sinensis* L.) de diferentes marcas comercializadas na cidade de Salvador-BA. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 436–443, 2015.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. Anthocianins as food colors, **Academic Press**, 1^a edicao, p. 181-207. 1982.

FRANCKI, V. M. ANGINI; GOLLÜCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos / Functional foods: introduction to main bioactives substances**. Varela; 95 p. São Paulo, 2005.

GARUD, M. S.; KULKARNI, Y. A. Gallic Acid Attenuates Type I Diabetic Nephropathy in Rats Mayuresh. **Chemico-Biological Interactions**, 2018.

JÚNIOR, G. DE L. M. et al. Qualidade Da Fibra Para a Dieta De Ruminantes. **Ciência Animal**, v. 17, n. 1, p. 7–17, 2007.

KIM, H. H. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 429–436, 2010.

KOMUTARIN, T. et al. Extract of the seed coat of *Tamarindus indica* inhibits nitric oxide production by murine macrophages in vitro and in vivo. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 649–658, 2004.

KUGANESAN, A. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Peels, Pulps and Seed Kernels of Three Common Mango (*Magifera indica* L.) Varieties in Sri Lanka. **Ijpsr**, v. 8, n. January, p. 77, 2017.

KUMAR, M. et al. Gamma radiation and magnetic field mediated delay in effect of accelerated ageing of soybean. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 8, p. 4785–4796, 2015.

KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283–1287, 2006.

LIRA, J. S. DE et al. **Pitangueira**. Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA, 1ª ed. Recife, PE, 2007.

LUIZ, R. C.; HIRATA, T. A. M.; CLEMENTE, E. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1766–1773, 2007.

LUZIA, D.; BERTANHA, B.; JORGE, N. Sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): potencial antioxidante e perfil de ácidos graxos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 2, p. 175–180, 2010.

LUZIA, D.; JORGE, N. Study of antioxidant activity of non-conventional Brazilian fruits. **Journal of Food Science and Technology**, v. 5, n. 6, p. 1167–1172, 2014.

MAITI, R. et al. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, n. 1, p. 85–91, 2004.

MARANGONI, A.; ALLI, I.; KERMASHA, S.; Composition and Properties of Seeds of the Tree Legume *Tamarindus indica*. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 5, p. 1452–1455, 1988.

MARTINELLO, F. et al. Hypolipemic and antioxidant activities from *Tamarindus indica* L. pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 6, p. 810–818, 2006.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v.13, p.1091-1101, 1972.

McCREADY, R. M.; McCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. **Analytical Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 186-188, 1952.

MEDEIROS, G. R.; KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. AVALIAÇÃO DE CAROTENÓIDES EM CENOURA E ANÁLISE DESIDRATADA. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 1, p. 306–313, 2011.

MUNHOZ, C. L.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J.; SOARES-JÚNIOR, M. S. Extração de pectina de goiaba desidratada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 119–125, 2010.

NELSON, N. A. A photometric adaptation of somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biology Chemistry, Baltimore**, v. 153, n. 2, p. 375–380, 1944.

NIZIKOU, J. et al. Extraction and Characteristics of Seed Kernel Oil from Mango (*Mangifera indica*). **Research Journal of Environmental and Earth Sciences**, v. 2, n. 1, p. 31-35, 2010.

ODUNSI, A. Response of laying hens and growing broilers to the dietary inclusion of mango (*Mangifera indica* L.) seed kernel meal. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, n. 2, p. 139-150, 2005.

OKELLO, J. et al. Mineral composition of *Tamarindus indica* LINN (tamarind) pulp and seeds from different agro-ecological zones of Uganda. **Food Science & Nutrition**, n. March, p. 1–8, 2017.

OLIVEIRA, A. L. et al. Isolation by pressurised fluid extraction (PFE) and identification using CPC and HPLC/ESI/MS of phenolic compounds from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 145, p. 522–

529, 2014.

OTTEN, J. J.; HELLWIG, J. P.; MEYERS, L. D. Dietary reference intakes : the essential guide to nutrient requirements. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, issue 3, pages 924, March 2007.

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, n. 4, p. 522–526, 2000.

REZENDE, A. A. et al. Nutritional and protein quality of dry Brazilian beans (*Phaseolus vulgaris* L .), **Food Sci. Technol, ahead of print Epub**, p. 1–7, Oct., 2017.

RIBEIRO, S. M. R. et al. Bioactive compounds in mango (*Mangifera indica* L.). In: **Bioactive Foods in Promoting Health**, Elsevier. p. 507–523, 2010 .

RUFINO, M. DO S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, v. 23, n. 2, p. 1–4, 2007.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

SALINAS, J.G.; GARCIA, R. Metodos quimicos para el analisis de suelos acidos y plantas forrajeras. **Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)**, Cali, CO. 87 p., 1985.

SAUCIER, C. T.; WATERHOUSE, A. L.; Synergetic Activity of Catechin and Other Antioxidants. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 11, 1999.

SANTOS, D. N. et al. Arginase inhibition, antibacterial and antioxidant activities of Pitanga seed (*Eugenia uniflora* L.) extracts from sustainable technologies of high pressure extraction. **Food Bioscience**, v. 12, p. 93–99, 2015a.

SANTOS, D. N. E. et al. Study of supercritical extraction from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.) with bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, n. April, p. 365–374, 2015b.

SANTOS, G. G.; SILVA, M. R. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomez) ice cream prepared with fat replacers and sugar substitutes. **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, v. 32, n. 3, p. 621–628, 2012.

SEGOVIA, F. J.; CORRAL-PÉREZ, J. J.; ALMAJANO, M. P. Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 213–220, 2016.

SILVA, E. P. DA et al. Developing fruit-based nutritious snack bars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 1, p. 52–56, 2014a.

SILVA, L. M. R. DA et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398–404, 2014b.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, n. 3, p. 411–417, 2004.

SOUZA, V. R. et al. Analysis of various sweeteners in low-sugar mixed fruit jam: Equivalent sweetness, time-intensity analysis and acceptance test. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 7, p. 1541–1548, 2013.

SPILLER, S. H. Pectina De Goiaba : Avaliação De Esterases Durante O Amadurecimento (Solubilização De Membranas E Eletroforese). 05.06. p. 101. Dissertação (mestrado, área de concentração Química e Bioquímica de Produtos Naturais e Sintéticos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2012.

SYLVIA, E.-S. **Nutrition and diagnosis - related care**. Seventh, north american edition.

TEISSON, C. Le brunissement interne de l'ananas. I- Historique. II-Materiel et Methodes. **Fruits**. Paris, v. 34, n. 4, p. 245-281, 1979.

THARANATHAN, R. N., YASHODA, H. M. AND PRABHA, T. N., "Mango (Mangifera indica L.) the king of fruits an overview". **Food Reviews International**, 22, 95–123, 2006.

TORRES-LEÓN, C. et al. Mango seed: Functional and nutritional properties. **Trends in Food Science and Technology**, v. 55, p. 109–117, set. 2016.

TSUDA, T. et al. Screening for antioxidative activity of edible pulses. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 57, n. 9, p. 1606-1608, 1993.

TSUDA, T. et al. Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (Tamarindus indica L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 12, p. 2671–2674, 1994.

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds A rapid method for the determination of fiber and lignin. **Jornal of the AOAC**, v.46, n. 5, 1963.

VEGA, V. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of byproduct extracts of mango fruit. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 86, p. 205–211, 2013.

YADAV, M. et al. Protective effect of gallic acid in experimental model of ketamine-induced psychosis: possible behaviour, biochemical, neurochemical and cellular alterations. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 2, p. 1–12, 2017.

YATNATTI, S.; VIJAYALAKSHMI, D.; CHANDRU, R. Processing and Nutritive Value of Mango Seed Kernel Flour. **Current Research in Nutrition and Food Science**, v. 2, n. 3, p. 170-175, 2014.

YI, C. et al. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 570–576, 2009.

ZHENG, R. et al. Recovery of phenolics from the ethanolic extract of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) baggase and evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities. **Industrial Crops and Products**, v. 107, n. June, p. 360–369, 2017.

ARTIGO 2

**PLANEJAMENTO DE MISTURA NA EXTRAÇÃO DE FENÓLICOS E
ANTOCIANINAS DA SEMENTE DE TAMARINDO (*TAMARINDUS
INDICA* LINN.)**

RESUMO

Este trabalho objetivou analisar os teores compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) de extratos obtidos das sementes de tamarindo. Os extratos das sementes de tamarindo foram obtidos utilizando o planejamento de misturas tipo simplex-centróide, empregando solventes considerados menos agressivos ao meio ambiente e à saúde humana (água, etanol e isopropanol) em três temperaturas 25°C, 35°C e 55°C, com tempo (4 horas) e fração mássica semente: solvente (1:5) previamente fixados. Através desse planejamento observou-se um aumento na extração de fenólicos totais de 0,02 g/100g quando se utilizou isopropanol como solvente puro a 35°C até 1,10 g/100g empregando-se a mistura água: isopropanol a 55°C. O teor de antocianinas de 1,9 mg/100g, obtido a partir da água como solvente puro a 35°C, chegou a 14,63 mg/100g quando foi empregado o etanol a 25°C. A porcentagem de sequestro de radical DPPH dos extratos variou de 0,4% com isopropanol a 25°C, a 91,3% no extrato obtido a 55°C da mistura de água e isopropanol. O planejamento de misturas simplex-centróide mostrou-se uma eficiente e acessível forma de otimizar os processos de extração de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante.

Palavras-chave: *Tamarindus indica*. DPPH. Simplex-Centroid. Superfície de Resposta. Sub-produtos. Fitoquímicos.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the contents of phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method in the different extracts obtained from tamarind seeds. using simplex-centroid design, with solvents considered to be less aggressive to the environment and to human health (water, ethanol and isopropanol) at three temperatures (25 °C, 35 °C and 55 °C); time (4 hours) and seed:solvent (1:5) mass fraction were previously fixed. Through this design, an increase in the total phenolic extraction of 0.02 g/100 g was observed when isopropanol was used as a pure solvent at 35 °C to 1.10 g/100 g, using the water:isopropanol mixture at 55 °C. The anthocyanin content of 1.9 mg/100 g obtained from water as a pure solvent at 35 °C, reached 14.63 mg/100 g when ethanol was used at 25 °C. The percentage of DPPH radical sequestration of the extracts ranged from 0.4% with isopropanol at 25 °C, to 91.3% in the extract obtained at 55 °C from the water/isopropanol mixture. The simplex-centroid design proved to be an efficient and accessible way to optimize the extraction process of total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity.

Keywords: *Tamarindus indica*. DPPH. Simplex-Centroid. Response Surface. By-products. Phytochemicals.

1 INTRODUÇÃO

O aumento do interesse do consumidor por alimentos naturais tem refletido no desenvolvimento da indústria de sucos naturais e polpas congeladas. Isto resulta no descarte de altas quantidades de sementes e cascas de frutas, (OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013) como é o caso do tamarindo, (*Tamarindus indica* Linn.), uma leguminosa (KOMUTARIN et al., 2004; MAITI et al., 2004), cultivada em diversos países, incluindo Brasil (TSUDA et al., 1994). Suas sementes são ricas em compostos bioativos (TSUDA et al., 1994) e, in vitro, seu extrato reduziu a peroxidação lipídica (TSUDA et al., 1993, 1994).

Extensivamente distribuídos na natureza, os compostos bioativos são substâncias importantes na dieta humana, principalmente por seus efeitos antioxidantes, que variam de acordo com sua estrutura, número e posição de grupos hidroxila, (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; PATIL et al., 2009; SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992). A atuação destes compostos é importante na redução da oxidação de lipídeos em tecidos animais ou vegetais, dado que, além de promover a conservação da qualidade nos alimentos, previnem patologias no consumidor, (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; PATIL et al., 2009; SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992). A capacidade antioxidante pode ser observada tanto em compostos fenólicos, como em vitamina C, vitamina E, carotenóides, antocianinas e outros, (SOUZA et al., 2012), cujas atividades podem ser avaliadas por diferentes métodos.

A determinação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH, que mensura a eliminação deste radical, tem sido extensivamente usada para triagem de compostos antioxidantes, por ser uma metodologia simples e sensitiva. Compostos antioxidantes doam hidrogênio para os radicais livres presentes no DPPH formando o DPPH reduzido. A cor muda de roxo para amarelo após a

redução, que pode ser quantificada com base na diminuição na absorvância (ROESLER et al., 2007).

Nos processos de extração de compostos bioativos deve-se atentar à finalidade que será empregado o extrato, pois o rendimento, a qualidade sensorial e a composição final têm estreita relação com os parâmetros do solvente utilizado (DANISCO, 2001; SÁNCHEZ-GÓMEZ et al., 2017). Ao mesmo tempo, observa-se que diversos solventes convencionais têm sido substituídos por outros com menor impacto ambiental e mais seguros como água, etanol, isopropanol e acetona que são aceitos para utilização na indústria de alimentos. Isto é resultado do crescimento de uma filosofia que visa impactar positivamente o ambiente, a química verde, (DUARTE et al., 2014; OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013).

O etanol é de origem renovável e produzido em grandes quantidades, (OLIVEIRA et al., 2012) não gera resíduos tóxicos, é de fácil recuperação e, por ser obtido com alta tecnologia e rendimento no Brasil, pode ser economicamente viável como solvente no processo de extração de compostos bioativos polares e apolares, (DAGOSTIN; CARPINÉ; CORAZZA, 2015), sendo ainda eficiente na extração de compostos fenólicos (KRISHNAN et al., 2013).

O isopropanol provém de fonte renovável (PERRIER et al., 2017) e, por ser polar, apresenta bons resultados de extração de componentes hidrofílicos, como açúcares e compostos fenólicos, (KRISHNAN et al., 2013; PERRIER et al., 2017). Além do mais, este solvente pode ser aplicado pela indústria alimentícia por gerar poucos resíduos com menor risco à saúde (OLIVEIRA et al., 2012; OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013).

A utilização da água como solvente em processos de extração tem sido incentivada a fim de promover a sustentabilidade e atender aos princípios da “química verde” (SÁNCHEZ-GÓMEZ et al., 2017). Além disso, quando presente no meio, a água é capaz de aumentar o rendimento da extração por

promover o intumescimento dos materiais vegetais, expandindo a superfície de contato entre a matriz e o solvente, (ALONSO-CARRILLO et al., 2017).

Em muitos processos de extração os solventes são aplicados isoladamente, no entanto o rendimento pode não ser satisfatório. Nesses casos são empregadas as misturas (KSIBI et al., 2015), pois elas têm potencial para alterar a composição do extrato, favorecendo a extração de substâncias específicas, (DAGOSTIN; CARPINÉ; CORAZZA, 2015; HANDA et al., 2016) que podem ser incorporadas aos alimentos, elevando as taxas de fenólicos totais e atividade antioxidante (NATUKUNDA; MUYONGA; MUKISA, 2016).

Considerando, portanto, o problema ocasionado pelos resíduos de processamento de vegetais, e o fato de que são fontes de compostos bioativos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; KIM et al., 2010; KUGANESAN et al., 2017; SANTOS et al., 2015), é imprescindível que a indústria desenvolva processos tecnológicos capazes de explorar todo o potencial da matéria-prima, (BARBA et al., 2017).

Neste trabalho foi avaliado o efeito da mistura de solventes envolvendo água, etanol e isopropanol na otimização, da concentração de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante dos extratos de semente de tamarindo (*Tamarindus indica* Linn.), utilizando um planejamento de misturas simplex centróide, sendo o estudo realizado em três temperaturas 25 °C, 35 °C e 55 °C.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

As sementes de tamarindo foram obtidas por meio de doação, do Instituto Federal do Triângulo Mineiro – Uberaba, onde eram resíduo da produção de polpa de fruta. A coleta ocorreu entre os meses de outubro e novembro de 2016. Após a separação pela despoldadeira, as sementes foram congeladas a -18°C e encaminhadas à Universidade Federal de Lavras em caixas com isolamento térmico, onde foram higienizadas e acondicionadas em congelador a -45°C.

O preparo, para uso nas análises, procedeu com secagem em estufa à vácuo sob temperatura de 45°C até peso constante (pressão absoluta = 16 kPa; Tecnal, modelo TE-395, Piracicaba, SP, Brasil). Após a secagem, as sementes foram trituradas em moinho com cuba refrigerada (Tecnal, modelo TE-631-3).

As sementes de tamarindo apresentam valores de 14,4 % de proteínas, 4,6 % de lipídeos, 1,8 % de cinzas, 7,1 % de fibras e 72,1 % de fração não nitrogenada, e valor calórico total de 423,42 kcal/100 g. São ricas em antocianinas, com 57,92 mg/100 gramas da semente, com teor de fenólicos totais de 122,3 mg EAG/ por grama de semente seca e atividade antioxidante 96,85% de Sequestro de Radicais Livres.

2.2 Extrato bruto das sementes de tamarindo

Para obtenção dos extratos foram adicionados 1,5 gramas de sementes secas e trituradas a 7,5 gramas de solvente (preparado de acordo com a Tabela 1), obtendo-se a razão mássica semente-solvente de 1:5. As temperaturas

utilizadas foram 25 °C, 35 °C e 55 °C. Para as extrações foram utilizados tubos cônicos tipo falcon com capacidade de 15 mL, devidamente tampados para evitar a perda de solvente.

Após a mistura de massas, o conjunto foi incubado em banho à temperatura constante, sob agitação de 120 rpm, durante 4 horas, tempo suficiente para estabelecer equilíbrio, conforme testes preliminares. As massas utilizadas das sementes secas e moídas e dos solventes foram pesadas em balança analítica (Shimadzu, AUY220) com capacidade de leitura de 0,0001 g.

Concluído o tempo de extração, os tubos foram centrifugados em centrífuga (Fanem, modelo 206) a 5000 rpm durante 10 minutos, a 4 °C. E. Após a centrifugação, os tubos (Figura 1) retornaram para o banho, mantidos à temperatura constante de acordo com o tratamento, sem agitação por 2 horas, até que se reestabelecesse o equilíbrio térmico. Após esse período a fase extrato foi separada da fase refinado para que se procedesse às análises da fase extrato. Da fase extrato foram realizadas as análises de fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante por DPPH.

2.2.1 Preparo do extrato bruto, para determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante

Para as determinações de fenólicos totais e capacidade antioxidante, houve preparo do extrato bruto obtido das sementes de tamarindo, conforme metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com adaptações. Amostras de 1 g de extrato bruto foram homogeneizadas em triturador de amostras (Turratec TE-102 Tecnal), com 20 mL de solução aquosa de metanol 50% (1:1, v:v) e deixada em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi centrifugada a 14.000 rpm por 15 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi recuperado e adicionado de 20 mL de

solução aquosa de acetona 70% (70:30, v/v) ao resíduo, foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora à temperatura ambiente e, em seguida, centrifugado a 14.000 rpm por 15 minutos, a 4°C. O sobrenadante coletado foi adicionado ao primeiro sobrenadante e o volume completado para 50 mL com água destilada (RUFINO et al., 2007).

2.3 Métodos analíticos

2.3.1 Determinação de fenólicos totais

O conteúdo fenólico total foi determinado de acordo com o método adaptado de Folin-Ciocalteu (SAUCIER; WATERHOUSE, 2002). O preparado do extrato bruto das sementes (0,5 mL) foi misturado com 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de solução de carbonato de sódio (4%). A mistura foi agitada e mantida à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Após 2 horas foi medida a absorvância, a 750 nm, usando espectrofotômetro. Soluções aquosas de ácido gálico foram usadas para construção da curva de calibração. Os resultados foram expressos em gramas de ácido gálico equivalentes (EAG) por 100 g de semente seca.

2.3.2 Atividade antioxidante total pelo método de DPPH

Na determinação da atividade antioxidante foi empregada a metodologia baseada na extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH 60 μ M), proposta por Rufino et al. (2007) com adaptações, calculando-se o percentual de sequestro do radical livre DPPH com relação ao controle.

Para a determinação da capacidade antioxidante foram adicionados 0,1 mL de cada extrato, preparado a partir do extrato bruto da semente de tamarindo,

a 3,9 mL de solução de DPPH. Para o controle foram adicionados 0,1 mL de metanol juntamente ao DPPH, no lugar do extrato. As leituras foram realizadas a cada 30 minutos até a estabilização, em espectrofotômetro a 515 nm e os resultados expressos em percentual de sequestro de radicais livres.

2.3.3 Antocianina monomérica

A determinação de antocianinas no extrato bruto foi de acordo com metodologia descrita por Francis (1982). Pesou-se 1 grama de extrato bruto, homogeneizado em triturador de amostras (Turratec TE-102 Tecnal), no qual foram adicionados 25 mL de etanol: HCl 1,5 M (85:15, v:v), encubando por 1 hora em temperatura ambiente. Filtrou-se a mistura e completou-se o volume, em balão volumétrico, para 50 mL com etanol: HCl 1,5 M, e após esse procedimento foi efetuada a leitura, a 535 nm, em espectrofotômetro (Varian, Cary 50 Scan). O branco foi determinado por solução de etanol: HCl 1,5M. A quantificação de antocianinas totais baseou-se no coeficiente de absorção molar da cianidina-3-glicosídeo por 100 gramas de amostra.

2.3.4 Planejamento Experimental

Na otimização da mistura de solventes para a extração de compostos bioativos (compostos fenólicos e antocianina) e atividade antioxidante do extrato das sementes de tamarindo foi usado o planejamento de mistura simplex centróide, com duplicata no ponto central (CORNELL, 1973), selecionando-se as condições ótimas para as variáveis fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante do radical DPPH. Na extração foram utilizadas misturas de três componentes: água (X_1), etanol (X_2) e isopropanol (X_3), na qual cada componente foi estudado em quatro níveis 0 (0%), 1/3 (33%), 1/2 (50%) e 1

(100%) (Tabela 1), com duas repetições no ponto central, totalizando 8 ensaios. Para o ajuste dos modelos empregou-se o pacote software R, sendo avaliados os modelos de regressão linear (1), quadrática (2) e cúbica (3). Na seleção do modelo de regressão foi avaliado o nível de significância ($p < 0.05$) do modelo e o coeficientes de determinação ($R^2 > 0,90$) (CASTRO; SATO, 2013). As equações 1 a 3 representam os modelos linear, quadrático e cúbico utilizados:

$$Y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 \quad (1)$$

$$Y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 \quad (2)$$

$$Y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad (3)$$

Os coeficientes não significativos ao nível de 5% foram excluídos do modelo e foi avaliado através da análise de variância a significância e a falta de ajuste da regressão sem os fatores não significativos (Modelo reduzido) através do teste F com 95% de confiança ($p \leq 0,05$), e análise do coeficiente de determinação.

Onde Y é a resposta predita, β_i é a regressão dos coeficientes para cada termo linear, β_{ij} e β_{ijk} são efeitos das interações binárias e ternárias dos termos e X_i , X_j e X_k são codificações das variáveis independentes (frações mássicas dos componentes da mistura). O programa R foi empregado para elaborar o planejamento, analisar os dados e construir o modelo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão os dados experimentais das variáveis respostas compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante pelo método do DPPH para o planejamento da regra da mistura simplex-centróide, nas três temperaturas de extração. As análises dos extratos de cada ensaio foram realizadas em triplicata.

Tabela 1- Valores médios de fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante por DPPH dos diferentes extratos obtidos por planejamento simplex-centróide, com misturas de água, etanol e isopropanol.

Temperatura (°C)	X ₁	X ₂	X ₃	Fenólicos ^a	Antocianinas ^b	DPPH ^c	
25	1	1	0	0	0,172	2,664	15,869
	2	0	1	0	0,078	14,625	4,230
	3	0	0	1	0,042	3,217	0,412
	4	0,5	0,5	0	0,880	7,078	60,877
	5	0,5	0	0,5	0,562	5,778	36,985
	6	0	0,5	0,5	0,078	2,881	2,995
	7	0,33	0,33	0,33	0,987	10,122	68,057
	8	0,33	0,33	0,33	0,984	4,269	65,604
35	1	1	0	0	0,184	1,901	9,581
	2	0	1	0	0,077	2,224	6,833
	3	0	0	1	0,024	2,766	1,501
	4	0,5	0,5	0	0,568	4,834	38,866
	5	0,5	0	0,5	0,692	5,021	45,576
	6	0	0,5	0,5	0,089	3,869	8,384
	7	0,33	0,33	0,33	0,694	5,324	33,383
	8	0,33	0,33	0,33	0,719	6,234	26,700
55	1	1	0	0	0,056	5,237	5,414
	2	0	1	0	0,173	3,442	23,974
	3	0	0	1	0,237	3,844	7,538
	4	0,5	0,5	0	0,574	5,257	57,596
	5	0,5	0	0,5	1,103	6,090	91,284
	6	0	0,5	0,5	0,211	2,766	13,747
	7	0,33	0,33	0,33	0,730	4,765	63,651
	8	0,33	0,33	0,33	0,881	5,536	71,954

X₁ fração mássica da água, X₂ fração mássica do etanol, X₃ fração mássica do isopropanol, ^a g de EAG/100g de extrato bruto, ^b L.mol⁻¹.cm⁻¹/100g e ^c % Sequestro de radicais livres.

Fonte: Da autora.

Com base nos modelos completos mais significativos para cada temperatura e variável resposta, foram definidos os coeficientes. Na existência de termos não significativos foi realizada a análise dos modelos reduzidos, avaliando-se a significância dos coeficientes (considerando como significativo, $p < 0,05$). Foram geradas curvas de nível para cada modelo selecionado, onde as linhas preveem os valores das respostas em diferentes proporções de solventes.

3.1 Fenólicos totais

O rendimento de fenólicos totais a partir do extrato bruto das sementes de tamarindo variaram de 1,103g/100g para extração água:isopropanol a 55°C, a 0,024g de EAG/100g para isopropanol puro a 35°C.

Nas extrações a 25 °C, os valores da concentração de compostos fenólicos no extrato bruto variaram de 0,987 g de EAG /100g no ponto central, a 0,042 g de EAG /g100g para a extração com isopropanol. Com base na análise de variância da regressão houve ajuste do modelo cúbico ao nível de significância 5%. No teste de significância dos coeficientes do modelo observou-se que a interação X_2X_3 não foi significativa ($p=0,09126$). O ajuste do modelo cúbico reduzido foi significativo ($p=0,0002$) e $R^2=0,9997$. A equação do modelo cúbico codificado para temperatura de 25°C com os parâmetros significativos está na Tabela 2.

Tabela 2 - Modelos preditos para a concentração de compostos fenólicos dos extratos da semente de tamarindo nas diferentes temperaturas.

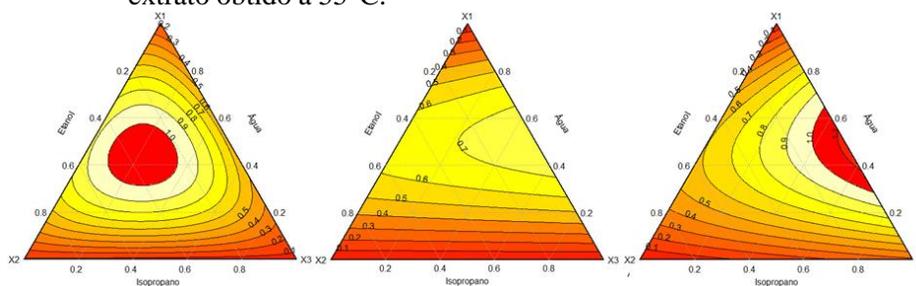
Temperatura (°C)	Modelo	R ²
25	$Y=0,172X_1 + 0,084X_2 + 0,048X_3 + 3,008X_1X_2 + 1,808X_1X_3 + 10,037X_1X_2X_3$	0,999
35	$Y=2,584X_1X_2 + 3,080X_1X_3$	0,945
55	$Y = 0,2785X_3 + 2,3827X_1X_2 + 3,9418X_1X_3$	0,971

Fonte: Da autora.

As curvas de nível para o modelo cúbico reduzido aplicado ao resultado da análise de fenólicos totais extraídos a 25°C pode ser visualizada na Figura 2a. Dos solventes puros, a água foi o que obteve extratos mais concentrados nos compostos fenólicos totais, e obteve um efeito sinérgico com o etanol (X_1X_2) e com o isopropanol (X_1X_3). A interação ternária ($X_1X_2X_3$) teve efeito sinérgico grande, de modo que a otimização da extração dos compostos fenólicos totais ocorre na região que contém os três solventes, como mostra a Figura 1a. Considerando os solventes puros, a menor concentração dos compostos fenólicos foi obtida com o isopropanol a 25°C.

Na análise de significância dos coeficientes da extração a 35°C houve ajuste dos modelos quadrático e cúbico. Mas, como a interação tripla do modelo cúbico não apresentou significância, optou-se por fazer a análise de variância do modelo quadrático reduzido, o qual incluiu as interações água: etanol (X_1X_2), com valor $p=0,00066$, e água: isopropanol (X_1X_3), com valor de $p=0,00025$, $R^2=0,9584$ e $DPR=0,1132$. Próximo aos valores centrais obteve-se maiores rendimentos.

Figura 1 - Curva de nível para extrações da semente de tamarindo; (a) modelo cúbico reduzido para a concentração de compostos fenólicos totais no extrato obtido a 25°C; (b) modelo quadrático reduzido para a concentração de fenólicos totais no extrato obtido a 35°C; (c) modelo quadrático reduzido para a concentração de fenólicos totais no extrato obtido a 55°C.



Fonte: Da autora.

Os dados da determinação de fenólicos totais obtidos na extração a 55°C apresentaram ajuste ao nível 5%, na análise de variância, para o modelo quadrático. Na análise de significância dos coeficientes do modelo quadrático completo observou-se bom ajuste aos dados com R^2 ajustado elevado (0,9821) e desvio padrão relativo (DPR) baixo (0,1035). No entanto, os efeitos lineares da água e isopropanol bem como a interação binária entre álcool e isopropanol não foram significativos ao nível de 5%.

O modelo quadrático reduzido apresentou R^2 ajustado de 0,9821 e DPR igual a 0,1035, e os coeficientes X_3 , X_1X_2 e X_1X_3 foram significativos ao nível de 5%. Com o gráfico pode-se observar que a região do máximo está próxima ao eixo oposto ao vértice do componente 2 puro.

Ksibi et al. (2015) observaram teor de fenólicos é maior quando a água está presente em alguma proporção. A combinação de água com solventes orgânicos favorece a formação de um meio polar que possibilita a maior extração de compostos fenólicos (GONG et al., 2012; HANDA et al., 2016; MUNHOZ et al., 2014; NACZK; SHAHIDI, 2006). O aumento da concentração de fenólicos totais com a presença de água também pode ocorrer devido à expansão da matéria-prima através da absorção, o que poderia promover um aumento da superfície de contato entre a semente estudada e o solvente orgânico (XIAO; HAN; SHI, 2008).

De acordo com a análise de variância para o modelo completo de fenólicos nas três temperaturas, os resultados não diferiram o que pode ser devido à variabilidade dos dados.

3.2 Antocianinas

Os rendimentos de antocianinas, a partir dos extratos brutos, variaram entre 14,63 mg/100g da extração empregando etanol como solvente puro (X_2) a 25°C

e 1,90 mg/100g da extração com a água como solvente puro (X_1) a 35°C.

Na determinação da variância da regressão para teores de antocianinas a partir do extrato obtido a temperatura de 25°C, os modelos linear e cúbico se ajustaram aos dados experimentais. No entanto, no modelo linear os coeficientes X_2 ($p=0,1440$) e X_3 ($p=0,1330$) não foram significativos. Enquanto no modelo cúbico, apenas a interação X_2X_3 não apresentou significância ($p=0,5266$). Além do mais, o modelo cúbico apresentou R^2 ajustado (0,9992) mais elevado e DPR inferior (0,1161) ao modelo linear (R^2 ajustado=0,707; DPR=2,164). Sendo assim, devido ao seu melhor ajuste, o modelo cúbico reduzido foi mais indicado para descrever os dados, como mostra a Figura 3a. O coeficiente do modelo reduzido foi significativo, com bom ajuste aos dados.

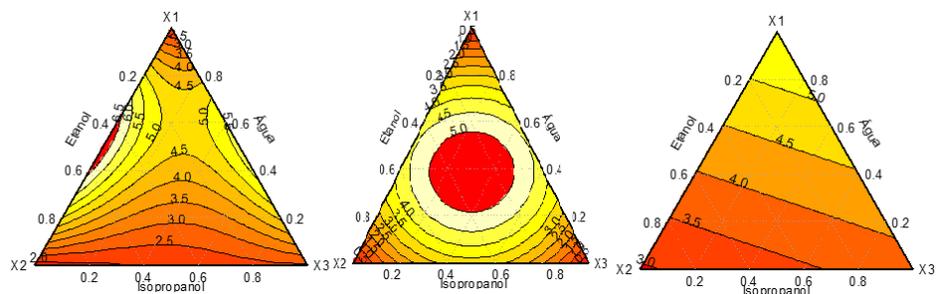
Tabela 3 - Modelos preditos para a concentração de antocianinas dos extratos da semente de tamarindo nas diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Modelo	R^2
25	$Y = 1,8898X_1 + 1,7692X_2 + 2,4928X_3 + 20,2576X_1X_2 + 14,1235X_1X_3 - 52,8322X_1X_2X_3$	0,9998
35	$Y = 17,561X_1X_2 + 17,728X_1X_3 + 13,142X_2X_3$	0,9357
55	$Y = 5,499X_1 + 2,948X_2 + 3,777X_3$	0,9549

Fonte: Da autora.

O modelo que melhor ajustou aos resultados na extração a 35°C foi o quadrático. Na seleção dos coeficientes que melhor representam os resultados foi incluída a interação binária entre etanol e isopropanol, embora tenham apresentado dados não significativos a 5%. A inclusão foi baseada na simulação prévia, onde se obteve baixo R^2 ajustado (0,7589) e elevado DPR (1,842). Portanto, o modelo quadrático contendo as interações X_1X_2 , X_2X_3 e X_1X_3 obteve-se R^2 aj=0,9357 e DPR=1,203. Então, esses termos foram utilizados na análise do modelo quadrático reduzido.

Figura 2 - Curva de nível para extrações da semente de tamarindo; (a) modelo linear reduzido para a concentração de antocianinas no extrato obtido a 25°C; (b) modelo quadrático reduzido para a concentração de antocianinas no extrato obtido a 35°C; (c) modelo linear completo para a concentração de antocianinas no extrato obtido a 55°C.



Fonte: Da autora.

Na extração a 55°C, com base nos modelos avaliados, pode-se verificar que os modelos linear e quadrático se ajustaram ao nível de 5% aos dados de antocianinas do extrato obtido na temperatura de 55°C. Porém, na análise dos coeficientes dos modelos, os efeitos quadráticos foram não significativos, não sendo necessária sua avaliação. Portanto, o modelo linear completo descreveu melhor os resultados e a equação do modelo linear para a concentração de antocianinas é dada na Tabela 3.

A 25°C a região ótima de extração se encontra no eixo oposto ao emprego de isopropanol puro, em contrapartida, quando se realizou a extração a 55°C, os melhores efeitos foram observados próximos à região em que se empregou água pura.

Pelo resultado da análise de variância, as diferentes temperaturas empregadas apresentaram diferença quanto ao rendimento de antocianinas, sendo que houve maior teor na temperatura de 55°C seguido pela de 25 e 35°C.

3.3 Atividade antioxidante

Na análise de variância da regressão para os dados obtidos na determinação de atividade antioxidante, a partir da extração a 25°C, houve ajuste do modelo cúbico ao nível de significância estabelecido. Avaliando-se a significância dos coeficientes do modelo, mostraram significativos a água (X_1), as interações binárias água: etanol (X_1X_2) e água: isopropanol (X_1X_3) e a interação ternária ($X_1X_2X_3$). Devido a alguns coeficientes não terem apresentado significância foi realizada a análise do modelo reduzido considerando apenas os coeficientes significativos mencionados acima. A equação do modelo pode ser visualizada na Tabela 4. Conforme a **Erro! Fonte de referência não encontrada.** a pode-se observar pode-se que a maior capacidade antioxidante dos extratos esteve nos valores centrais, região próxima onde se verificou os maiores valores das concentrações de compostos fenólicos no extrato.

Entre os modelos avaliados, para os resultados de atividades antioxidantes obtidos a 35°C, houve ajuste do quadrático ($p=0,0464$), sendo que apenas o coeficiente água:isopropanol (X_1X_3 , $p=0,0397$) esteve dentro do nível de significância, o resultado da interação binária água:etanol (X_1X_2), por estar próximo ao nível de significância ($p=0,0694$), também foi considerado na análise do modelo reduzido. No modelo reduzido ambos os coeficientes de interação X_1X_2 ($p=0,0011$) e X_1X_3 ($p=0,0004$) foram significativos. A equação do modelo linear que descreve a atividade antioxidante do extrato é dada na Tabela 5. A interação da água com o isopropanol é maior, fazendo com que a região ótima esteja mais próxima do eixo onde a concentração de etanol na mistura é menor (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**b).

Tabela 4 - Modelos preditos para atividade antioxidante nas diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Modelo	R ²
25	$Y = 15,869X_1 + 4,582X_2 + 202,606X_1X_2 + 116,202X_1X_3 + 705,776X_1X_2$	0.9993
35	$Y = 142,111X_2 + 168,95X_1X_3$	0.9324
55	$Y = 24,696X_2 + 181,347X_1X_2 + 365,492X_1X_3$	0.9909

Fonte: Da autora.

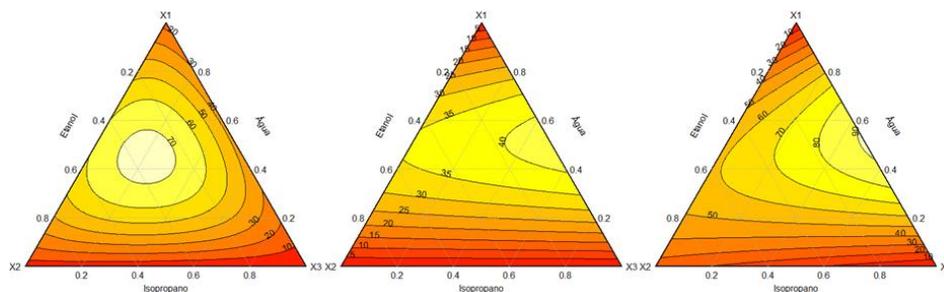
Houve ajuste dos dados da atividade antioxidante do extrato obtido a 55°C ao modelo quadrático, na análise de variância da regressão. Os coeficientes etanol (X₂), água: etanol (X₁X₂) e água: isopropanol (X₁X₃) foram significativos para o modelo e o R² foi de 0,9935. No entanto, DPR foi alto (4,19) e coeficientes como a água (X₁), isopropanol (X₃) e a mistura ternária (X₁, X₂, X₃) não foram significativos para o modelo. Assim como para a temperatura de 35°C, a região com maior atividade antioxidante corresponde a misturas com menores concentrações de etanol e proporções similares de água e isopropanol.

As curvas de nível apresentadas na determinação de atividade antioxidante (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**) se assemelham às curvas de determinação de fenólicos totais (Figura 1), ou seja, o comportamento dos extratos na avaliação da atividade antioxidante foi semelhante ao observado no resultado de fenólicos totais. Handa et al. (2016) observaram correlação positiva entre os teores de fenólicos totais e a atividade antioxidante determinada pelo método DPPH.

Em geral, os extratos obtidos de misturas de solventes contendo água apresentaram maior capacidade redutora do radical DPPH, resultado semelhante foi observado por Kaisoon et al. (2012) e por Munhoz (2014).

Conforme análise de variância dos dados nas diferentes temperaturas tem-se que houve maior teor de DPPH à temperatura de 55°C, seguida pelas temperaturas de 25 e 35°C, respectivamente.

Figura 3 - Curva de nível para extrações da semente de tamarindo; (a) modelo cubico reduzido para a atividade antioxidante no extrato obtido a 25°C; (b) modelo quadrático reduzido para a atividade antioxidante no extrato obtido a 35°C; (c) modelo quadrático reduzido para a atividade antioxidante no extrato obtido a 55°C.



Fonte: Da autora.

O planejamento de misturas simplex-centróide mostrou-se uma eficiente e acessível forma de otimizar, os processos de extração de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante. A utilização de solventes menos agressivos ao ambiente e à saúde humana deve ser encorajada, pois, se usados dentro de um bom planejamento, podem ser muito eficientes na extração de componentes de interesse para indústria alimentícia e farmacêutica.

4 CONCLUSÃO

Considerando as análises realizadas, pode-se concluir que há efeito significativo na utilização dos diferentes solventes e misturas, bem como influência da temperatura empregada na extração.

Na extração de fenólicos a extração a 25°C mostrou maior rendimento próximo ao ponto central, com o emprego de temperaturas mais alta, a 55°C, a extração foi maior quando água e isopropanol estavam presentes em proporções iguais.

Os maiores teores de antocianinas, foram obtidos na extração a 25°C quando água e etanol foram empregados em proporções iguais. A temperatura influenciou no aumento do rendimento.

Em relação à atividade antioxidante dos extratos, a 25°C obteve-se maior rendimento na região do ponto central. Observou-se ainda, que a 55°C na presença de água e isopropanol em proporções iguais o rendimento foi maior comparando-se as três temperaturas.

De maneira geral, este trabalho demonstrou o grande potencial que o uso da mistura de solventes possui na extração de componentes presentes na matriz vegetal.

REFERENCIAS

ALONSO-CARRILLO, N. et al. Extraction of phenolic compounds from *Satureja macrostema* using microwave-ultrasound assisted and reflux methods and evaluation of their antioxidant activity and cytotoxicity. **Industrial Crops and Products**, v. 103, n. September 2016, p. 213–221, 2017.

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

BARBA, F. J. et al. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 67, p. 195–206, 2017.

CASTRO, R. J. S.; SATO, H. H. Synergistic effects of agroindustrial wastes on simultaneous production of protease and α -amylase under solid state fermentation using a simplex centroid mixture design. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 813–821, 2013.

CORNELL, J. A. Experiment with mixtures: A Review. **Technometrics**, v. 15, n. 3, p. 437–455, 1973.

DAGOSTIN, J. L. A.; CARPINÉ, D.; CORAZZA, M. L. Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: Kinetics and thermodynamics. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 69–75, 2015.

DANISCO, P. P. Comparing extraction by traditional solvents with supercritical extraction from an economic and environmental standpoint. **ISASF–CD-Rom. Versailles, France**, p. 4–7, 2001.

DUARTE, K. et al. Chapter 4 – Green Analytical Methodologies for Preparation of Extracts and Analysis of Bioactive Compounds. In: **Comprehensive Analytical Chemistry**. [s.l: s.n.]. p. 59–78.

GONG, Y. et al. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. **Fitoterapia**, p. 481–489, 2012.

HANDA, C. L. et al. Multi-response optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, v. 197, p. 175–184, 2016.

KAISOON, O.; KONCZAK, I.; SIRIAMORNPUN, S. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. **FOOD RESEARCH INTERNATIONAL**, v. 46, n. 2, p. 563-571, 2012.

KIM, H. H. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 429–436, 2010.

KOMUTARIN, T. et al. Extract of the seed coat of *Tamarindus indica* inhibits nitric oxide production by murine macrophages in vitro and in vivo. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 649–658, 2004.

KRISHNAN, R. K. et al. Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 3, p. 326–332, 2013.

KSIBI, I. EL et al. Mixture approach for optimizing the recovery of colored phenolics from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products as potential source of natural dye and assessment of its antimicrobial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 34–40, 2015.

KUGANESAN, A. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Peels, Pulp and Seed Kernels of Three Common Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties in Sri Lanka. **Ijpsr**, v. 8, n. January, p. 77, 2017.

MAITI, R. et al. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, n. 1, p. 85–91, 2004.

MUNHOZ, V. M. et al. Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: Process optimization and screening for biological activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 24, n. 5, p. 576–583, 2014.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, 2006.

NATUKUNDA, S.; MUYONGA, J. H.; MUKISA, I. M. Effect of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed on antioxidant activity, phytochemicals, physicochemical characteristics, and sensory acceptability of enriched cookies and mango juice. **Food Science and Nutrition**, v. 4, n. 4, p. 494–507, 2016.

OLIVEIRA, R. et al. Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol - A response surface approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 1, p. 22–31, 2012.

OLIVEIRA, R. C. DE; BARROS, S. T. D. DE; GIMENES, M. L. The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 458–463, 2013.

PATIL, B. S. et al. Bioactive compounds: Historical perspectives, opportunities and challenges. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8142–8160, 2009.

PERRIER, A. et al. Effect of ultrasound and green solvents addition on the oil extraction efficiency from rapeseed flakes. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 39, n. December 2016, p. 58–65, 2017.

RODRIGUES, C. E. DA C. Utilização de solvente biorenovável nos processos de extração e desacidificação de óleos vegetais. 2011, 171 p. Tese (Livre Docência na área de Equilíbrio de Fases e Processos de Separação na Indústria de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo. Pirassununga-SP.2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. HarvestPlus Handbook for Carotenoids Analysis. **HarvestPlus Technical monograph series 2**, Crops for better nutrition, Washington DC, 2004.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Food science and technology**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, v. 23, n. 2, p. 1–4, 2007.

SÁNCHEZ-GÓMEZ, R. et al. A potential use of vine-shoot wastes: The antioxidant, antifeedant and phytotoxic activities of their aqueous extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 120–127, 2017.

SANTOS, D. N. et al. Arginase inhibition, antibacterial and antioxidant activities of Pitanga seed (*Eugenia uniflora* L.) extracts from sustainable technologies of high pressure extraction. **Food Bioscience**, v. 12, p. 93–99, 2015.

SAUCIER, C. T.; WATERHOUSE, A. L.; Synergetic Activity of Catechin and Other Antioxidants. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 11, 1999.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. Phenolic antioxidants. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67–103, 1992.

SOUZA, V. R. DE et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381–386, 2012.

TSUDA, T. et al. Screening for antioxidative activity of edible pulses. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 57, n. 9, p. 1606-1608, 1993.

TSUDA, T. et al. Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 12, p. 2671–2674, 1994.

XIAO, W.; HAN, L.; SHI, B. Microwave-assisted extraction of flavonoids from *Radix Astragali*. **Purification Technology**, v. 62, p. 614–618, 2008.