



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

MARINA CARVALHO MARTINS

**ESTUDO DE PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO DE POLIFENOIS E ANTOCIANINAS
DE JUSSARA (*Euterpe edulis* MARTIUS)**

ALEGRE- ES
2016

MARINA CARVALHO MARTINS

**ESTUDO DE PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS E ANTOCIANINAS DE
JUSSARA (*Euterpe edulis* MARTIUS)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Pollyanna Ibrahim Silva
Coorientadores: Sérgio Henriques Saraiva
Raquel Vieira de Carvalho

ALEGRE- ES

2016

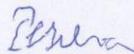
MARINA CARVALHO MARTINS

**“ ESTUDO DE PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS E
ANTOCIANINAS DE JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius) ”**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 29 de fevereiro de 2016.

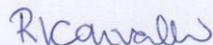
COMISSÃO EXAMINADORA:



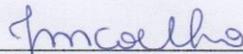
Prof^a. Dr^a. Pollyanna Ibrahim Silva
Universidade Federal do Espírito Santo- UFES
Orientadora



Prof. Dr. Sérgio Henriques Saraiva
Universidade Federal do Espírito Santo- UFES
Coorientador



Prof^a. Dr^a. Raquel Vieira de Carvalho
Universidade Federal do Espírito Santo- UFES
Coorientadora



Prof^a. Dr^a. Jussara Moreira Coelho
Universidade Federal do Espírito Santo- UFES
Examinadora Externa

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

M386e Martins, Marina Carvalho, 1989-
Estudo de parâmetros de extração de polifenóis e antocianinas de jussara (euterpe edulis martius) / Marina Carvalho Martins. – 2016.
102 f. : il.

Orientador: Pollyana Ibrahim Silva.

Coorientador: Sérgio Henriques Saraiva.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Palmeira jussara. 2. Extração por solventes. 3. Antocianinas.
4. Compostos fenólicos. 5. Atividade antioxidante. 6. Ultrassom. I. Silva,
Pollyana Ibrahim. II. Saraiva, Sérgio Henriques. III. Universidade Federal do
Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 664

***Aos meus pais, Pedro e Gracinha,
aos meus irmãos, Mariana e Vitor,
e ao meu amado noivo João,
DEDICO.***

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que me proporcionou a vida, iluminou o meu caminho durante esta caminhada e me deu força nos momentos mais difíceis.

Aos meus amados pais Pedro e Maria das Graças pela educação, amor e incentivo. Vocês foram fundamentais nessa caminhada!

Aos meus irmãos Vitor e Mariana e aos cunhados Fernando e Bianca pelo exemplo de vida, carinho, incentivo e amizade.

Agradeço ao meu querido noivo João Carlos que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades e por sempre acreditar no meu potencial.

Às minhas amigas do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial a Emília, Manu, Mari, Letícia, Talita, Mila e Tamires pelo companheirismo, amizade e apoio sempre.

Às meninas da república pela companhia.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PCTA) pela oportunidade e formação. À Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

A professora DSc. Pollyanna Ibrahim Silva, pela orientação, oportunidade, confiança, dedicação e ensinamentos que sem dúvida, foram fundamentais para mais essa etapa de minha vida.

Ao professor DSc. Sérgio Henriques Saraiva pela coorientação, dedicação e auxílio nas análises estatísticas.

A professora DSc Raquel Vieira de Carvalho pela coorientação, e sugestões valiosas na execução do estudo.

A todos os professores do PCTA pelo conhecimento transmitido.

À professora Maria Helena Pinheiro Sant'Ana pela colaboração na análise cromatográfica.

Aos estagiários Daiane, Mara Isa e Walter pelo companheirismo, amizade e ajuda para a realização deste trabalho.

Aos professores DSc. Sérgio Henriques Saraiva, Raquel Vieira de Carvalho e Jussara Moreira Coelho pela gentileza de participarem da banca examinadora e também pelas sugestões apresentadas para melhoria deste trabalho.

RESUMO

MARTINS, Marina Carvalho. **Estudo de Parâmetros de Extração de Polifenóis e Antocianinas de jussara (*Euterpe edulis Martius*)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof^a. DSc. Pollyanna Ibrahim Silva. Coorientadores: Prof. DSc. Sérgio Henriques Saraiva e Prof^a. DSc. Raquel Vieira de Carvalho.

A cor de um produto exerce influência na sua aceitação, e para intensificar ou conferir cor aos produtos são adicionados corantes, naturais ou artificiais. As antocianinas são pigmentos naturais encontrados amplamente em flores e frutos, e além de coloração atrativa, possuem potencial benéfico à saúde, devido à sua ação antioxidante, anticarcinogênica e antiviral. O jussara (*Euterpe edulis Martius*), fruto da palmeira jussara, é uma fonte substancial de antocianinas, porém ainda é pouco explorado. A extração de antocianinas pode ser realizada de diversas formas as quais podem diferir em termos de rendimento. Assim, o estudo do processo de extração é fundamental para se determinar as condições ótimas de forma a maximizar o rendimento da extração e minimizar as perdas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a polpa de jussara e otimizar o processo de extração de antocianinas e compostos fenólicos, maximizando sua atividade antioxidante. Para tal, avaliou-se o tipo e a concentração de solvente, a razão solução:polpa, bem como a temperatura e a potência ultrassônica. Inicialmente foi realizada a caracterização físico-química do fruto, e o mesmo teve o seu teor de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante dosados. A otimização de extração de antocianinas foi estudada em delineamentos compostos centrais rotacionais avaliando o efeito do tipo e concentração de solvente e da razão solução:polpa. Posteriormente foi estudado o efeito do ultrassom na extração de bioativos e atividade antioxidante. Foi observado que a polpa de jussara é rica em bioativos e atividade antioxidante, sendo a cianidina 3-rutinosídeo a antocianina majoritária ($0,61 \text{ mg.g}^{-1}$). Além disso, verificou-se que o jussara é um fruto rico em lipídios (3,33%), pouco ácido (0,19%), apresentando pH de 5,06 e atividade antioxidante de $16,06 \text{ } \mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$. Em relação à extração, sugeriu-se a utilização de etanol como solvente extrator, uma vez que esse não diferiu dos demais solventes analisados, e apresenta menor custo e toxicidade, além de ser permitida sua utilização em alimentos. Quanto à sua concentração e razão solução:polpa, observou-se que o

ensaio utilizando 50% de etanol e 15,6 mL.g⁻¹ apresentou melhor extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Na extração de compostos bioativos e atividade antioxidante utilizando ultrassom, a temperatura não influenciou no processo, dessa forma, observou-se que a extração pode ocorrer a 25°C, reduzindo os gastos de energia necessária para o aumento da temperatura. Quanto à potência ultrassônica aplicada, para a obtenção de extratos ricos em antocianinas e compostos fenólicos, sugeriu-se a não aplicação de ondas ultrassônicas. No entanto, para a obtenção de maior atividade antioxidante, recomenda-se a utilização de potência de 360 W, também associada à temperatura de 25°C.

Palavras-chave: otimização, extração, ultrassom, compostos bioativos, *Euterpe edulis* Martius.

ABSTRACT

MARTINS, Marina Carvalho. **Study on polyphenols and anthocyanins extraction parameters of jussara (*Euterpe edulis martius*)**. 2016. Dissertation (Master's degree in Food Science and Technology) – Federal University of Espírito Santo, Alegre, – ES. Advisor: Prof. DSc. Pollyanna Ibrahim Silva. Co-advisors: Prof. DSc. Sérgio Henriques Saraiva and Prof. DSc. Raquel Vieira de Carvalho.

The color of a product influences its acceptance and to intensify or impart color to products, natural or artificial colorants are added. Anthocyanins are natural pigments widely found in flowers and fruits, and besides its attractive coloring, have potential health benefits due to their antioxidant, anticarcinogenic and antiviral action. Jussara (*Euterpe edulis* Martius) is a substantial source of anthocyanins, but it is still poorly explored. The anthocyanin extraction can be performed in various ways which may differ in terms of yield. Thus, the study of the extraction process is crucial to determine the optimal conditions to maximize the efficiency of extraction and minimize losses. The objective of this study was to characterize the jussara pulp and optimize the anthocyanin and phenolic compounds extraction process, maximizing its antioxidant activity. To this end, were evaluated the type and concentration of solvent, the ratio solution:pulp, as well as the temperature and the ultrasonic power. Initially the physical-chemical characterization of the fruit was carried out, and its content of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity was measured. Optimization of anthocyanins extraction was studied in central composite rotational designs evaluating the effect of the type and concentration solvent and the ratio solution:pulp. Subsequently the effect of ultrasound on the extraction of bioactive and antioxidant activity was studied. It was observed that jussara pulp is rich in bioactive and antioxidant activity, being cyanidin 3-rutinoside the major anthocyanin (0.61 mg.g^{-1}). Furthermore it was found that Jussara is a fruit rich in lipids (3.33%), slightly acid (0.19%) with pH of 5.06 and antioxidant activity of $16.06 \text{ } \mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$. Regarding the extraction, it was suggested the use of ethanol as extracting solvent, since this was not different from the other solvents tested and shows less toxicity and cost, besides allowing its use in contact with food. As for the concentration and ratio solution:pulp, it was observed that the assay using 50% ethanol and 15.6 mL.g^{-1} showed better anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity extraction. In the extraction of bioactive compounds and antioxidant activity using ultrasound, the temperature did

not influence the process, thus it was observed that the extraction can occur at 25 °C, reducing the energy costs necessary to increase the temperature. As for the ultrasonic power applied, to obtain extracts rich in anthocyanins and phenolic compounds, was suggested the non-application of ultrasonic waves. However, to obtain higher antioxidant activity, it is recommended to use power of 360 W, also associated with a temperature of 25 °C.

Keywords: optimization, extraction, ultrasound, bioactive compounds, *Euterpe edulis* Martius.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius.)

Tabela 1. Valores médios da caracterização físico-químicas da polpa de jussara.....44

Tabela 2. Coordenadas colorimétricas da polpa de jussara (*Euterpe edulis* Martius).....46

Tabela 3. Identificação e quantificação das principais antocianinas presentes na polpa de jussara..... 47

CAPÍTULO II - OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO CONVENCIONAL DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius)

Tabela 1. Valores codificados e reais das concentrações de soluções extratoras (%) e razão solução:polpa (mL.g⁻¹) utilizados nos ensaios com soluções etanólicas, metanólicas e acetônicas no primeiro delineamento composto central rotacional..... 58

Tabela 2. Valores codificados e reais das concentrações de soluções extratoras e razão solução:polpa (mL.g⁻¹) utilizados nos ensaios com soluções etanólicas, metanólicas e acetônicas no segundo delineamento composto central rotacional..... 60

Tabela 3. Valores codificados e reais das concentrações de soluções extratoras (%) e razão solução:polpa (mL.g⁻¹) utilizado nos ensaios com soluções etanólicas, metanólicas e acetônicas no terceiro delineamento composto central rotacional..... 61

Tabela 4. Valores médios de antocianinas, atividade antioxidante e compostos fenólicos obtidos no primeiro DCCR proposto..... 62

Tabela 5. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando etanol como solvente extrator..... 66

Tabela 6. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando acetona como solvente extrator..... 67

Tabela 7. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando metanol como solvente extrator..... 69

Tabela 8. Valores médios de antocianinas extraídas de polpa de jussara utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator..... 71

Tabela 9. Valores médios de compostos fenólicos de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator..... 72

Tabela 10. Valores médios de atividade antioxidante de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator.....	74
Tabela 11. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando etanol como solvente extrator.....	76
Tabela 12. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando acetona como solvente extrator.....	78
Tabela 13. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando metanol como solvente extrator.....	79
Tabela 14. Valores médios de antocianinas de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator.....	81
Tabela 15. Valores médios de compostos fenólicos de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator.....	83
Tabela 16. Valores médios de atividade antioxidante de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator.....	84

CAPÍTULO III- ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius) ASSISTIDA POR ULTRASSOM: EFEITO DA POTÊNCIA E TEMPERATURA

Tabela 1. Variáveis e níveis estudados na extração de antocianinas de jussara assistida por ultrassom.....	94
Tabela 2. Análise de variância para teor de antocianinas.....	95
Tabela 3. Teor de antocianinas para diferentes temperaturas e potências ultrassônicas.....	95
Tabela 4. Teor de antocianinas para diferentes temperaturas e potências ultrassônicas.....	97
Tabela 5. Teor médio de compostos fenólicos, em relação às diferentes potências ultrassônicas.....	98
Tabela 6. Análise de variância para atividade antioxidante.....	99
Tabela 7. Atividade antioxidante, em relação às diferentes potências ultrassônicas.....	99

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cátion Flavilium	20
Figura 2. Estrutura química das antocianinas.....	21
Figura 3. Transformações estruturais das antocianinas com mudanças de pH.....	22
Figura 4. Ruptura da parede celular devido à cavitação e difusão do solvente na estrutura da célula.....	28
CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (<i>Euterpe edulis</i> Martius.)	
Figura 1. Cromatograma da polpa de jussara.....	48
Figura 2. Cromatograma dos padrões de antocianinas.....	48
CAPÍTULO II - OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO CONVENCIONAL DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE JUSSARA (<i>Euterpe edulis</i> Martius)	
Figura 1. Teor de antocianinas em relação ao tempo de extração.....	63
Figura 2. Representação gráfica da comparação entre os métodos do pH diferencial (1) e único (2) na quantificação do teor de antocianina de jussara.....	65
CAPÍTULO III - ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (<i>Euterpe edulis</i> Martius) ASSISTIDA POR ULTRASSOM: EFEITO DA POTÊNCIA E TEMPERATURA	
Figura 1. Teor de antocianinas em relação à temperatura utilizada nas respectivas potências ultrassônicas.....	96

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 O fruto da palmeira jussara (<i>Euterpe edulis</i> Martius).....	17
2.2 Compostos Fenólicos.....	18
2.2.1 Flavonoides	19
2.3 Antocianinas.....	19
2.3.1 Principais fatores que afetam a estabilidade das antocianinas.....	21
2.3.2 Propriedades benéficas das antocianinas	23
2.3.3 Fontes de antocianinas.....	23
2.3.5 Métodos e solventes extratores	24
3. REFERÊNCIAS.....	29
4. OBJETIVO.....	36
4.1 OBJETIVO GERAL	36
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
CAPÍTULO I.....	37
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (<i>Euterpe edulis</i> Martius)	37
1. INTRODUÇÃO	40
2. MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1 Matéria-prima.....	41
2.2 Caracterização físico-química da polpa de jussara.....	41
2.2.1 Determinação de pH.....	41
2.2.2 Determinação de acidez titulável total	41
2.2.3 Teor de água	41
2.2.4 Determinação de cinzas	42
2.2.5. Determinação de proteínas.....	42
2.2.6. Determinação de lipídios	42
2.2.7 Antocianinas totais.....	42
2.2.8 Compostos Fenólicos totais.....	42
2.2.9 Atividade Antioxidante	43
2.2.10 Identificação e quantificação das principais antocianinas do jussara	43
2.2.11 Análise colorimétrica.....	44

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4. CONCLUSÃO.....	49
5. REFERÊNCIAS.....	49
Capítulo II.....	52
OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO CONVENCIONAL DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE JUSSARA (<i>Euterpe edulis Martius</i>).....	52
1. INTRODUÇÃO	55
2. MATERIAL E MÉTODOS	56
2.1 Matéria-prima.....	56
2.2 Análises quantitativas	56
2.2.1 Antocianinas totais pelo método pH único	56
2.2.2 Antocianinas totais pelo método pH Diferencial.....	56
2.2.3 Conteúdo fenólico total	57
2.2.4 Atividade antioxidante – ensaio do radical ABTS	57
2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	57
2.3.1 Primeiro estudo de otimização.....	58
2.3.2 Segundo estudo de otimização.....	60
2.3.3 Terceiro estudo de otimização	60
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
3.1 Ensaio de otimização da extração de bioativos da polpa de jussara	61
3.1.1 Primeiro estudo de otimização.....	61
3.1.2 Efeito do tempo na extração de antocianinas de jussara.....	63
3.1.3 Efeito do método de quantificação de antocianinas de jussara	64
3.1.4 Segundo estudo de otimização.....	65
3.1.5 Terceiro estudo de otimização.....	75
4. CONCLUSÃO.....	85
5. REFERENCIAS.....	85
CAPÍTULO III.....	89
ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (<i>Euterpe edulis Martius</i>) ASSISTIDA POR ULTRASSOM: EFEITO DA POTÊNCIA E TEMPERATURA.....	89
1. INTRODUÇÃO	92
2. MATERIAL E MÉTODOS	93
2.1 Matéria-prima.....	93
2.2 Análises quantitativas	93
2.2.1 Antocianinas totais pelo método pH único	93

2.2.3 Conteúdo fenólico total	93
2.2.4 Atividade antioxidante – ensaio do radical ABTS	94
2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	94
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	95
4. CONCLUSÃO.....	100
5. REFERÊNCIAS.....	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS	102

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande biodiversidade vegetal, com potencial para a produção de uma variedade de matérias-primas, em virtude da sua vasta amplitude e tradição na produção agrícola (VIEIRA et al., 2013). É um país com condições climáticas apropriadas para muitas espécies frutíferas nativas e exóticas sub exploradas de potencial interesse industrial, podendo oferecer uma fonte de renda para a população local (GENOVESE et al., 2008). Dentre estas, um fruto que tem ganhado grande destaque é o jussara, fruto da palmeira *Euterpe edulis* Martius, rico em energia (INÁCIO et al., 2013), fonte de compostos fenólicos, dentre eles a antocianina, com alta atividade antioxidante (RUFINO et al., 2010). É nativo da mata atlântica, podendo ser encontrado nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e Bahia (LORENZI et al., 2006).

Os compostos fenólicos abrangem um vasto grupo de substâncias orgânicas, podendo ser divididos em flavonoides e não flavonoides, e as antocianinas são pigmentos que fazem parte do grupo dos flavonoides, que podem ser encontradas em diferentes frutos e flores, como: açaí, morango, uva, cereja, jabuticaba, jambo, jambolão, maçã, berinjela, repolho roxo, inflorescência de capim gordura, hibisco, dentre outros, podendo conferir diversas cores como azul, violeta, magenta, laranja e vermelho (DAMODARAN, PARKIN; FENNEMA 2010; RODRIGUES-SAONA; WROLSTAD, 2011).

Sabe-se que a cor é um dos atributos mais importantes nos produtos alimentícios, por estar relacionada ao apelo visual e à qualidade desses, assim, as antocianinas apresentam grande potencial para serem utilizadas como corante natural em alimentos. Além do alto poder corante, as antocianinas apresentam benefícios à saúde devido a sua ação antioxidante, ação antiinflamatória (ESPÍN et al., 2000), propriedade anticarcinogênica (HAGIWARA et al., 2001; WANG; STONER, 2008), dentre outras propriedades benéficas.

O processo de extração de antocianinas pode ocorrer utilizando diferentes solventes, sendo o metanol, etanol e acetona, os mais utilizados. De acordo com Rodriguez-Saona e Wrolstad (2001), o metanol é o mais eficiente, contudo, a extração de antocianinas usando o etanol pode ser a melhor opção por se tratar de solvente mais barato e não tóxico (FULEKI e FRANCIS, 1968). Dessa forma, etanol, acetona e

metanol vêm sendo muito estudados em relação à extração de compostos bioativos, devido às suas vantagens e capacidade de extração.

Quanto ao grau de extração, devem ser levados em consideração vários fatores, como: a relação volume de solvente/massa de matéria-prima, o tipo de solvente empregado (metanol, etanol, acetona) e o tipo de ácido (clorídrico, cítrico, tartárico, fórmico, acético, propiônico) (CONSTANT, 2003). Além disso, fatores como temperatura, pH, composição da solução extratora e tempo influenciam na extração (POMPEU et al., 2009).

Diversas tecnologias de extração são sugeridas a fim de permitir rápida extração de compostos fenólicos e antocianinas, como a extração por micro-ondas, extração com dióxido de carbono supercrítico, extração com solventes e ultrassom. Dentre estes métodos de extração, o ultrassom tem despertado maior atenção devido ao baixo custo e simplicidade do equipamento, maior eficiência de extração quanto ao tempo e ao consumo de solvente (IVANOVIC, et al., 2014).

O princípio da técnica de extração por ultrassom é a utilização de energia das ondas ultrassônicas, que possuem frequência acima de 20 kHz, com a finalidade de melhorar a transferência de massa dos solutos (CARRERA et al., 2012). Esse equipamento é muito utilizado nas áreas de engenharia e ciências, por se tratar de um procedimento não térmico com múltiplas capacidades que possibilita diferentes aplicações industriais, inclusive na indústria de alimentos (GOLMOHAMADI, 2013).

Assim, o objetivo do presente estudo foi caracterizar a polpa de jussara, bem como otimizar a extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante da mesma. Para tal, foram avaliados o uso de extração convencional e com aplicação de ultrassom. Os parâmetros estudados foram o tipo e concentração de solvente, razão solução:polpa, bem como temperatura e potência ultrassônica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O fruto da palmeira jussara (*Euterpe edulis*)

Euterpe é um gênero botânico de palmeiras, e tem aproximadamente 28 espécies que podem ser encontradas na América do Sul e na América central. Dessas, as duas mais importantes são *Euterpe oleracea* Martius e *Euterpe edulis* Martius (YAMAGUCHI et al., 2015). A palmeira *E. oleracea* pertence à família *Arecaceae*, e é popularmente conhecida como açazeiro, que produz um fruto denominado açai. Essa espécie é nativa da região Amazônica, sendo os estados do Pará, Amazonas, Maranhão, Acre, Amapá e Tocantins os maiores produtores.

O *Euterpe edulis* também pertence à família *Arecaceae*, e sua palmeira é conhecida como palmeira jussara, que produz o fruto chamado jussara. Esse fruto é produzido nas áreas de mata atlântica, nos estados de Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (BORGES, et al. 2011). Apesar de espécies diferentes, de acordo com Inada et al. (2015), o fruto da palmeira jussara (*E. edulis*) é semelhante ao fruto do açazeiro (*E. oleracea*).

Além da produção do fruto, da palmeira jussara extrai-se também o palmito. No entanto para a realização dessa segunda prática é necessário o corte da palmeira, que culminou na extinção da espécie nas áreas originais. Com isso, nos últimos anos o cultivo de jussara foi incentivado à produção de frutos, pois assim os frutos podem ser obtidos todos os anos a partir da mesma planta (SILVA et al., 2013). Outro fator relevante é que, no processo de despulpamento, uma grande quantidade de sementes é recuperada e pode ser utilizada para aumentar as populações dessa espécie (COSTA et al., 2008).

O Brasil é grande produtor e consumidor de açai (*Euterpe oleracea* Martius), e o jussara que ainda é considerado pouco explorado para o consumo, também vem ganhando espaço no mercado, uma vez que possui características sensoriais próximas ao açai (BORGES et al., 2011). No Espírito Santo o cultivo do jussara tem se expandido, principalmente na região sul, tornando uma importante fonte de renda para os agricultores familiares locais, que comercializam o fruto, a polpa e produtos como geleias, bolos e sorvete.

O fruto é arredondado com apenas uma semente, de aproximadamente 1,45 cm de diâmetro, correspondendo a 73,46% do peso do fruto (OLIVEIRA et al. 2002). É revestido por uma fina casca de coloração roxa escura quase negra (YAMAGUCHI et al., 2015). Tal coloração é devido à presença de antocianina, um pigmento natural presente no fruto, de grande importância para indústria alimentícia. Em função desse pigmento, o jussara pode ser considerado fonte de substâncias benéficas à saúde devido à sua ação antioxidante, ação anti-carcinogênica e anti-inflamatória (CANUTO et al., 2016).

Schultz (2008) comparou o teor de antocianina, compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpa de açaí e de jussara, tendo encontrado 231,6 mg.100g⁻¹, 653,3 mg.100g⁻¹ e 14,92 µmol trolox.g⁻¹, respectivamente em jussara. Laderoza et al. (1992) que também compararam o teor de antocianinas em jussara e açaí, encontraram teor do pigmento quatro vezes maior em jussara.

A composição centesimal do jussara foi estudada por Vieira et al. (2013), que encontraram 86,42% de umidade; 1,15% de proteína total; 5,86% de lipídios; 0,41% de cinzas e acidez total de 0,27 g de ácido cítrico.100g⁻¹. De acordo com Silva et al. (2013) o jussara é rico em minerais, antioxidante, ácidos graxos de excelente qualidade, fornecendo benefícios à saúde dos consumidores.

2.2 Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são gerados do metabolismo secundário de plantas, em condições de estresse como: irradiações UV, ferimentos e infecções, sendo fundamentais no crescimento e na reprodução das plantas. Possuem em sua estrutura anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (ANGELO; JORGE, 2007).

As fontes mais conhecidas de compostos fenólicos são as frutas cítricas, como laranja, limão e tangerina. No entanto, outras fontes também são conhecidas a exemplo da uva, cereja, ameixa, mamão, pêra, brócolis, repolho roxo, tomate, cebola, dentre outras (ANGELO; JORGE, 2007)

Em alimentos, os compostos fenólicos conferem cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. São conhecidos aproximadamente cinco mil fenóis, dos quais

se destacam os flavonoides, taninos, ácidos fenólicos, fenóis simples, tocoferóis, cumarinas e ligninas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os compostos fenólicos apresentam ação antioxidante, sendo muito eficientes na prevenção da autoxidação, uma vez que retardam a etapa de iniciação por diferentes mecanismos como complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxido para a formação de espécie não radical, desativação do oxigênio singlete e absorção de radiação ultravioleta. Dessa forma, contribuem na redução do risco de doenças como câncer, alterações no sistema nervoso, catarata e aterosclerose (RAMARATHNAM et al., 1995).

2.2.1 Flavonoides

A estrutura básica dos flavonoides consiste de um núcleo fundamental composto de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos e um pirano. São amplamente encontrados em plantas, concentrados em sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e flores (DORNAS et al., 2007). Dentro da classe dos flavonoides destacam-se as antocianinas, uma classe de pigmentos naturais amplamente distribuída na natureza.

2.3 Antocianinas

A palavra antocianina é derivada das palavras gregas: *anthos* (flor) e *kyanos* (azul), e estas foram unidas em 1835 por Marquart para designar os pigmentos azuis das flores (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008). Elas conferem diversas cores às plantas como azul, violeta, magenta, laranja e vermelho (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; RODRIGUEZ-SAONA; WROLSTAD, 2001).

2.3.1 Estrutura química das antocianinas

As antocianinas podem ser quimicamente definidas como glicosídeos de antocianidinas, e são poli-hidroxi e/ou polimetoxi derivados do 2- fenilbenzopirilium, ou cátion flavilium, que está apresentado na Figura 1 (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010; CONSTANT, 2003).

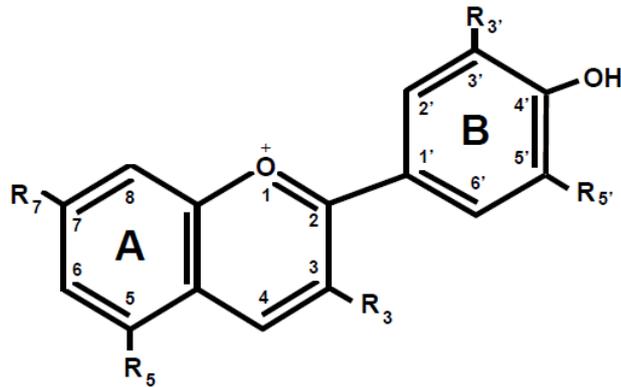


Figura 1. Cátion Flavilium.
Fonte: Constant (2003).

A molécula de antocianina (Figura 2) é formada por duas ou três porções: aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares, e comumente um grupo de ácidos orgânicos (SCHULTZ, 2008).

De acordo com Damodaram; Parkin e Fennema (2010), existem diferentes formas antociânicas, e esses compostos se distinguem pelo número de grupos hidroxila e/ou grupos metoxi presentes, pelo tipo, números e sítios de ligação de açúcares, e pelo tipo, número, sítios de ligação de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados aos açúcares da molécula. Os açúcares mais comuns são glicose, galactose, arabinose, ramnose e xilose. E os ácidos que mais participam da acilação dos açúcares são: p-cumárico, cafeico, ferúlico, sinápico, malônico, acético, málico, succínio ou oxálico.

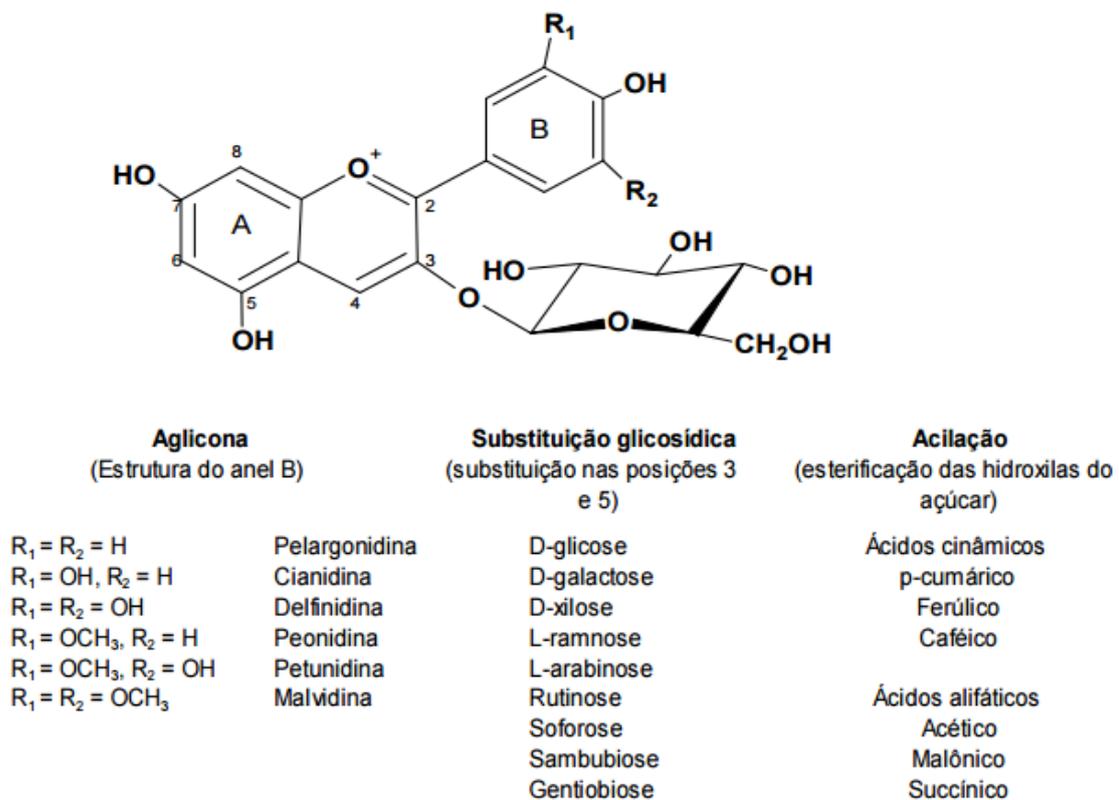


Figura 2. Estrutura química das antocianinas
Fonte: Malacrida e Motta (2006).

2.3.2 Principais fatores que afetam a estabilidade das antocianinas

As antocianinas são compostos altamente instáveis e muito suscetíveis à degradação (GIUSTI; WROLSTAD, 2003). Sua estabilidade pode ser afetada por alguns fatores como pH, temperatura, luz, e oxigênio (WANG; HE; LI, 2010). O estudo da estabilidade de antocianinas é de suma importância devido à sua potencial aplicação, seus efeitos benéficos e sua substituição aos corantes sintéticos (REIN, 2005).

De acordo com o grau de acidez ou alcalinidade, as antocianinas podem adotar diferentes estruturas químicas em meio aquoso, devido à alta reatividade da aglicona. Em meio ácido, a 25°C coexistem em equilíbrio quatro estruturas: cátion flavilium, base quinoidal, pseudo-base carbinol e chalcona. Dessas estruturas, o cátion flavilium e a base quinoidal são responsáveis pela coloração das antocianinas, sendo o carbinol e a chalcona incolores (Figura 3) (CONSTANT, 2003; IBRAHIM SILVA, 2011).

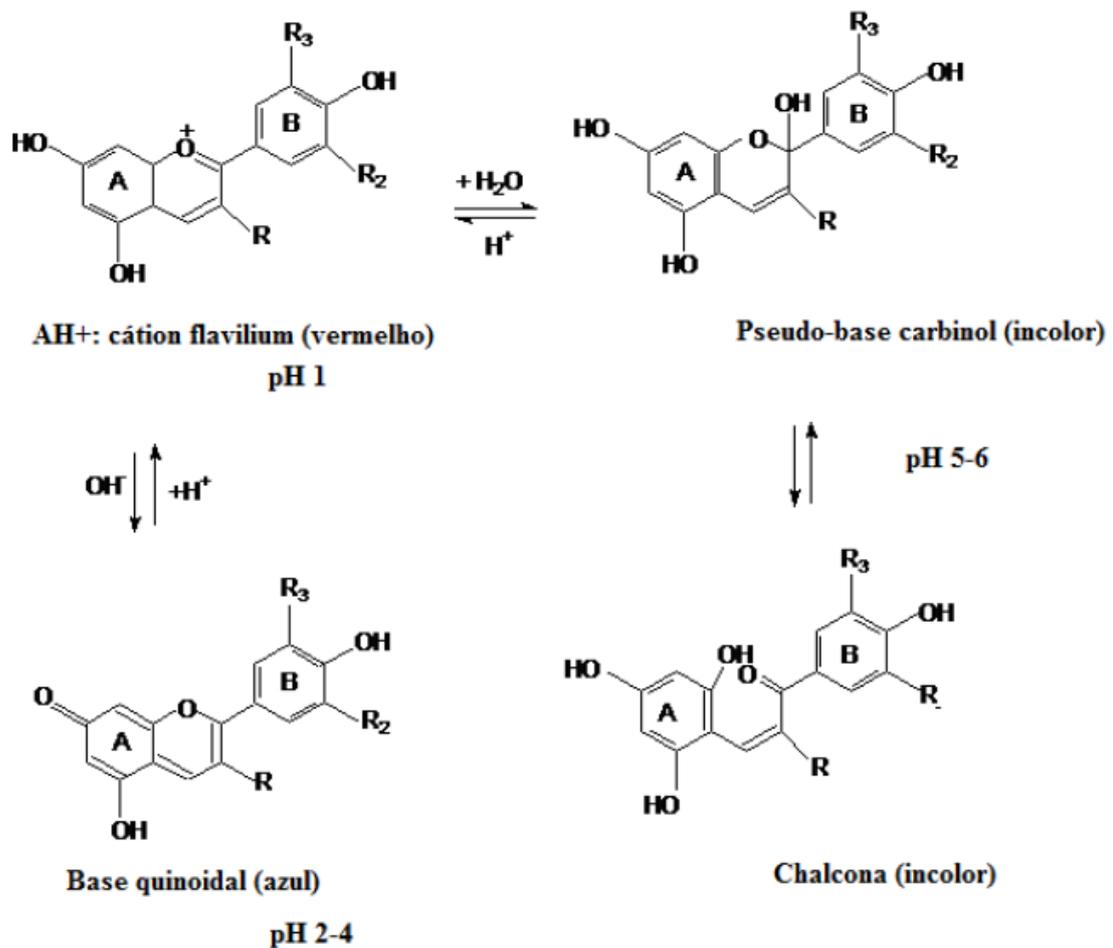


Figura 3. Transformações estruturais das antocianinas com mudanças de pH.
 Fonte: Ibrahim Silva (2011).

A pH 1, predomina-se o cátion flavilium (AH^+) que contribui para cores roxas e vermelhas. Aumentando o pH para valores entre 2 e 4, prevalece a base quinoidal conferindo coloração azul. A valores de pH entre 5 e 6 podem ser observadas duas espécies incolores que são pseudo-base carbinol e chalcona, e a valores de pH acima de 7, as antocianinas são degradadas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

A temperatura (ou calor) é outro fator que degrada as antocianinas, durante o processamento e armazenamento dos alimentos. Isso ocorre pois com o aumento da temperatura ocorre a clivagem do anel heterocíclico da pseudo-base com formação da chalcona (SUI; DONG; ZHOU, 2014).

O oxigênio também é um fator que afeta a estabilidade das antocianinas, uma vez que estas possuem estrutura insaturada, tornando-se suscetíveis ao oxigênio molecular (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A luz é um fator que atua de duas maneiras sobre as antocianinas: favorecendo a sua biossíntese e acelerando sua degradação (LIMA; MÉLO; LIMA, 2005)

2.3.3 Propriedades benéficas das antocianinas

Além do alto poder corante, as antocianinas apresentam potencial benéfico à saúde. Devido à sua estrutura fenólica, são capazes de conferir atividade antioxidante por meio da doação de elétrons dos átomos de hidrogênio (NOVELLO, 2011). Assim, estudos sugerem que o consumo de alimentos com alta atividade antioxidante, reduz o risco de algumas doenças como o câncer (FERRARI; TORRES, 2002; CAI, et al., 2004;), doenças cardíacas (OLIVEIRA; COSTA; ROCHA, 2015) e acidente vascular cerebral (NOVELLO, 2011). Além disso, as antocianinas também possuem ação anti-inflamatória (POULOSE et al. 2012; OLIVEIRA; COSTA; ROCHA, 2015), antimicrobiana (MACIEL et al., 2012; PINHO et al., 2012) e antiviral (KAPADIA et al., 1997).

2.3.4 Fontes de antocianinas

As antocianinas podem ser encontradas amplamente na natureza em flores e frutos. No Quadro 1 estão apresentados as antocianinas e suas respectivas fontes.

Copetti (2010) analisou o teor de antocianina de morango, e encontrou 17,59 mg de pelargonidina-3-glicosídeo.100g⁻¹. Já no estudo de Kuskoski et al. (2006), onde foi analisado antocianinas de diferentes fontes, foi encontrado 30,9 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ em uvas, 112,2 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ em jambolão e 41,8 cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ em amora.

Silva et al. (2010) encontraram o teor de antocianinas de 48,06 mg.100g⁻¹ em casca de jabuticaba. Já no estudo de Borges et al. (2011) foi encontrado 197,56 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ em polpa de jussara.

Ribeiro; Mendes e Pereira (2011) quantificaram o teor de antocianinas na polpa de jussara e açaí, e obtiveram 235,8 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ e 32,32 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹, respectivamente.

Quadro 1. Tipo e fontes de Antocianinas

Antocianinas	Fonte de antocianinas
Cianidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jabolão, morango, amora, maçã, jussara
Cianidina-3,5-diglicosídeo	Uva, vinho, cereja, figo, marmelo
Peonidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jabuticaba
Malvidina-3-glicosídeo	Uva, vinho
Malvidina-3,5-diglicosídeo	Uva, vinho, feijão, inhame
Cianidina-3-galactosídeo	Maçã, cacau
Cianidina-3- <i>p</i> -cumarilsoforosídeo-5-glicosídeo	Repolho roxo
Pelargonidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo	Rabanete
Pelargonidina-3-glicosídeo	Morango, tamarindo
Delfinidina-3,5-diglicosídeo	Berinjela, feijão, uva, romã
Delfinidina-3-cafeoilglicosídeo-5-glicosídeo	Berinjela
Petunidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, feijão, mirtilo, laranja

Fonte: Adaptado de Malacrida e Motta (2006).

2.3.5 Métodos e solventes extratores

O primeiro passo para a obtenção de antocianinas é a adequada extração. Por se tratar de um composto polar, a extração pode ser realizada empregando diversos solventes. Dentre os mais comuns estão o metanol, etanol e acetona (CASTAÑEDA-

OVANDO et al., 2009). De acordo com Francis (1982), o método mais empregado para obter extrato antociânico é utilizando solvente metanólico acidificado, por ser muito eficiente na extração. No entanto, para fins alimentícios, o etanol deve ser preferido, devido à alta toxicidade do metanol.

A eficiência da extração depende de alguns fatores como tipo e concentração do solvente, tipo de ácido utilizado para a redução do pH (visando atingir a faixa onde a antocianina é mais estável), razão solução:polpa (CONSTANT, 2003; BORGES et al. 2011; VIEIRA et al. 2013), temperatura, tempo de extração (POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009; VIEIRA et al. 2013) e pH (POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009).

Borges et al. (2011) analisaram a influência do tipo e da concentração de solventes na extração de antocianinas da polpa de jussara, e observaram diferença entre as concentrações de etanol e metanol na extração. Já Vieira et al. (2013) não verificaram diferença entre compostos fenólicos de jussara quando extraídos com diferentes concentrações (0, 30, 50, 70 e 90%) de etanol.

Rockenbach et al. (2008) também não encontraram diferença no teor de antocianinas em bagaço de uvas ao utilizarem acetona nas concentrações 30% (v/v) e 70% (v/v). Além disso, esses mesmos autores, não verificaram diferença em relação a atividade antioxidante em bagaço de uva *Ancelota* ao utilizar etanol e acetona.

A influência da razão solução:polpa m/v (3% e 17%) no teor de antocianinas de batata doce foi estudada por Bridgers et al. (2010), que observaram maior teor do pigmento quando utilizado maior razão. No entanto, Vieira et al. (2013) não encontraram diferença entre as diferentes razões solução:polpa (5, 10, 15, 20, 25, 30 mL.g⁻¹) no teor de antocianinas de jussara.

Vieira et al. (2013) também não observaram influência das diferentes temperaturas (25, 35, 45 e 55 °C) na extração de bioativos de jussara utilizando ultrassom.

Com a extração, obtém-se o extrato (pigmento mais o solvente acidificado), e a partir desse é realizada a quantificação do pigmento. A quantificação das antocianinas pode ser realizada por diferentes métodos, sendo os de pH único e pH diferencial os mais utilizados. A quantificação das antocianinas pelo método do pH diferencial consiste na leitura direta em espectrofotômetro do extrato diluído em tampão de pH 1,0 e pH 4,5

fundamentado na sensibilidade do pigmento ao pH (FULEKI; FRANCIS, 1968). Já o método do pH único é mais simples, sendo realizada apenas uma leitura em espectrofotômetro do extrato diluído em etanol:HCl (LEES; FRANCIS, 1972).

No estudo de Kruger et al. (2013) foi comparado os métodos de quantificação de antocianinas pelo pH único e diferencial de framboesa, e foi observado maior teor do pigmento pelo método do pH único. No entanto, os autores consideraram necessário os ajustes no método do pH diferencial para aplicação no produto estudado.

Teixeira et al. (2008) analisaram o teor de antocianinas de diferentes fontes, empregando o método do pH único e pH diferencial. Foi encontrada diferença significativa entre os métodos para a quantificação de antocianina presente na casca de jabuticaba. No entanto, para as demais fontes antociânicas estudadas (açai, morango, repolho roxo, casca de berinjela, sabugueiro, maria preta, romã, pétalas de Hibisco, inflorescência de capim gordura) não houve diferença entre os métodos. Assim, os autores sugeriram o uso do método do pH único devido à sua simplicidade.

2.4 Extração por ultrassom

Diversas tecnologias de extração são sugeridas a fim de permitir rápida extração de compostos fenólicos e antocianinas: extração assistida por micro-ondas, extração com dióxido de carbono supercrítico, campos elétricos pulsados, alta pressão hidrostática, extração convencional e assistida por ultrassom. Dentre estes métodos de extração, o ultrassom tem despertado maior atenção devido ao baixo custo do equipamento, simplicidade, rendimento da extração, maior eficiência de extração quanto ao tempo e ao consumo de solvente e maior qualidade dos extratos (IVANOVIC et al., 2014).

As ondas ultrassônicas são consideradas ondas mecânicas que são capazes de se propagar em qualquer meio material com frequência superior a 16 kHz. Estas ondas fazem parte de uma região do espectro acústico, que são divididos entre três principais regiões: faixa dos infrassons (menor que 16 Hz), faixa dos sons (entre 16 Hz e 18 kHz) e faixa dos ultrassons (superior a 18 kHz). A faixa de ultrassom ainda pode ser dividida entre faixa de baixa frequência (entre 16 kHz e 1MHz) e de alta frequência (acima de 1MHz) (SÃO JOSÉ, 2013).

O ultrassom é muito utilizado nas áreas de engenharia e ciências, por se tratar de um procedimento não térmico com múltiplas capacidades que possibilita diferentes aplicações industriais, inclusive na indústria de alimentos (GOLMOHAMADI, 2013). Atualmente a tecnologia do ultrassom vem sendo estudada em relação ao seu emprego no processamento, preservação e extração de diversas substâncias em alimentos. Estudos tem apontado sua eficiência nos processos de cozimento, emulsificação, desgaseificação, cristalização, congelamento/descongelamento, secagem em diferentes matrizes alimentícias (ALVES et al., 2013).

Em alimentos, os sistemas de aplicação de ultrassom mais utilizados são banhos e sondas. Os banhos possuem transdutor unido à base ou às paredes do tanque e a energia ultrassônica é cedida diretamente ao líquido, normalmente a água, que preenche o recipiente, transferindo essa energia ao alimento imerso nesse líquido (ALVES et al., 2013). Apesar do ultrassom de banho apresentar menor custo, de acordo com Chemat et al. (2011), com o tempo, ocorre perda da intensidade da energia ultrassônica e distribuição de maneira não uniforme, o que interfere na repetibilidade e reprodutividade dos dados.

No sistema de sondas, a energia ultrassônica é direcionada ao alimento por meio da haste metálica, sem necessidade de adição de um meio líquido entre o alimento e a sonda. Dessa forma, esse sistema possui a vantagem de transmitir energia ultrassônica em uma região mais discreta, favorecendo o processo de extração (CHEMAT et al., 2011)

Segundo Adjé et al. (2010) a extração de antocianinas por ultrassom pode reduzir o consumo de solvente em relação às técnicas do método convencional. A eficiência da extração empregando ultrassom tem sido atribuída ao fenômeno de cavitação das ondas ultrassônicas, que podem resultar em ruptura da parede celular, redução do tamanho das partículas, e reforçada transferência de massa por meio das membranas celulares (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012).

O fenômeno da cavitação gera a formação de cavidades, para as quais os gases dissolvidos no sistema migram, desenvolvendo microbolhas que aumentam e diminuem de tamanho, provocando ciclos de expansão e compressão até o colapso das bolhas, que liberam grande quantidade de calor. Materiais sólidos no meio

ocasionam implosão assimétrica das bolhas, originando jatos que colidem com partículas sólidas (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012). Tais colisões permitem o rompimento das células vegetais, colaborando para a difusão do solvente extrator para o interior da matriz (ADJÉ et al., 2010).

Shirsath, Sonawane e Gogate (2012) representaram esquematicamente o mecanismo de rompimento da parede celular, no qual, são desenvolvidas fissuras que aumentam a permeabilidade dos tecidos facilitando a entrada de solvente para o interior do material, devido ao fenômeno de cavitação (Figura 4).

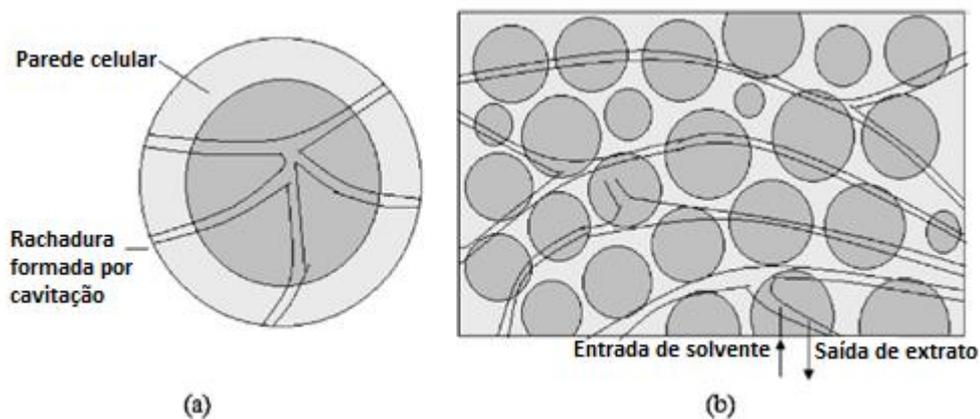


Figura 4. (a) Ruptura da parede celular devido à cavitação e (b) difusão do solvente na estrutura da célula.

Fonte: Adaptado de Shirsath; Sonawane; Gogate (2012).

A extração de bioativos em alimentos, utilizando o ultrassom, tem sido reportada principalmente para 20-40 kHz, sendo que, o tamanho da amostra, tempo de extração e volume de solvente comumente utilizados para extração sólido-líquido é entre 1-30 g, 10-60 min, e 50-200 mL, respectivamente (GOLMOHAMADI, 2013). Sabendo que a extração convencional ocorre entre 12 e 24 horas (CRUZ, 2008; TEIXEIRA et al., 2008), observa-se a grande vantagem da utilização da tecnologia do ultrassom na extração dos compostos. Além disso, a utilização dessa nova técnica permite reduzir o volume de solvente, reduzindo o custo e facilitando o processo evaporação do solvente para a concentração do extrato.

O procedimento de extração ultrassônica é promissor devido a sua simplicidade e baixo custo dos equipamentos (CARRERA, 2012), e tem sido utilizado para a extração

de diversos compostos orgânicos, a partir de várias matrizes, incluindo os compostos fenólicos.

Vieira et al. (2013) analisaram a influência da temperatura (25-55 °C) na extração de antocianinas e compostos fenólicos de polpa de jussara utilizando ultrassom, e verificaram não haver diferença significativa desse fator no teor de compostos bioativos.

Ivanovic et al. (2014) avaliaram a influência do tempo (15 e 30 minutos) e da temperatura (25 e 40 °C) ultrassônica na extração de antocianinas de amora-preta, e obtiveram melhor extração do pigmento quando empregada a combinação de 30 minutos e 40 °C, ou seja, maiores valores de temperatura e tempo analisados.

Pedro, Granato e Rosso (2016) quantificaram o teor de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante de arroz negro, analisando o efeito do tempo (20, 50 e 80 minutos), temperatura (10, 30 e 50 °C) e da razão sólido:solvente (15, 30 e 45 g.mL⁻¹), utilizando extração com ultrassom. Foi observado maior teor de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante quando empregado tempo de 50 minutos, temperatura de 30 °C, e razão solução:polpa de 30 mL.

No estudo realizado por Chen et al. (2007) foi avaliado o teor de antocianinas em framboesa empregando diferentes tempos de extração (0-300 segundos) e potências ultrassônicas (232- 568 W), e foi observada melhor extração do pigmento quando utilizada a potência de 400 W, e tempo de 200 s.

3. REFERÊNCIAS

ADJÉ, F. et al. Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 439–444, 2010.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista Instituto do Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

BORGES, G. S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; ZAMBIAZI, R. C.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in

southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, 2011.

BORGES, S. C. G.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. **Food Research International journal**, v. 44, n. 3, p. 708-715, 2011.

BRIDGERS, E. N.; CHINN, M. S.; TRUONG, V. DEN. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 613–620, 2010.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, v. 74, n. 17, p. 2157-2184, 2004.

CANUTO, G. A. B.; OLIVEIRA, D. R.; CONCEIÇÃO, L. S. M.; FARAH, J. P. S.; TAVARES, M. F. M. Development and validation of a liquid chromatography method for anthocyanins in strawberry (*Fragaria* spp.) and complementary studies on stability, kinetics and antioxidant power. **Food Chemistry**, v. 192, p. 566–574, 2016.

CARRERA, C.; RODRÍGUEZ, A. R.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, p. 100–104, 2012.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009.

CHEMAT, F.; ZILLE HUMA.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in foods technology processing, preservation and extraction. **Ultrason Sonochem**, v. 18, p. 813-835, 2011.

CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 6, p. 767–778, 2007.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea*, M.).** 2003. 183 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

COPETTI, C. **Atividade antioxidante in vitro e compostos fenólicos em morangos (*fragaria x ananassa* Duch): influência da cultivar, sistema de cultivo e período de colheita.** 2010. 87f. (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

COSTA, E. A.; GONÇALVES, C.; MOREIRA, S. F.; CORBELLINI, L. M. Produção de polpa de palmeira juçara: alternativa de renda para a Mata Atlântica. **revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, p. 60–66, 2008.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 900.

DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T.T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G.; SANTOS, A. F.; NAGEM, T. J. Flavonoides: Potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 28, n. 31, p. 241–249, 2007.

ESPIN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H.J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1588-1592, 2000.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas New dietetic compounds with anticarcinogenic properties. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 375–382, 2002.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. New York, Academic Press,1982. p. 181-207.

FREITAS, J.; SÃO, B. DE. **Caracterização físico-química e microbiológica de tomate processado submetido a diferentes tratamentos de sanitização**. 2013. 156 f. (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J.; Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. **Journal of food science**, v. 33, p. 78-83, 1968.

GENOVESE, M. I.; PINTO, M. S.; GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 3, p. 207–214, 2008.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 217–225, 2003.

GOLMOHAMADI, A.; MOLLER, G.; POWERS, J.; NINDO, C. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p.1316-1323, 2013.

HAGIWARA, A.; MIYASHITA, K.; NAKANISHI, T.; SANO, M.; TAMANO, S.; KADOTA, T.; KODA, T.; NAKAMURA, M.; IMAIDA, K.; ITO, N.; SHIRAI, T. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-16-phenylimidazol (4,5- b) pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. **Cancer Letters**, v. 171, p. 17-25, 2001.

IADEROZA, M; BALDINI, VLS; DRAETTA, SE; BOVI, MLA. Anthocyanins from fruits of açai (*Euterpe oleracea* Mart) and juçara (*Euterpe edulis* Mart). **Tropical Science**. v. 32, p. 41-46. 1992.

IBRAHIM-SILVA, P. **Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)**. 2011. 173f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

INÁCIO, M. R. C.; LIMA, K. M. G.; LOPES, V. G.; PESSOA, J. D. C.; TEIXEIRA, G. H. A. Total anthocyanin content determination in intact açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and palmitero-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration. **Food Chemistry**, v.136, p. 1160-1164, 2013.

INADA, K. O. P.; OLIVEIRA, A. A.; REVORÊDO, T. B.; MARTINS, A. B. N.; LACERDA, E. C. Q.; FREIRE, A. S.; BRAZ, B. F.; SANTELLI, R. E.; TORRES, A. G.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. C. **Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions**, *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 422–433, 2015.

IVANOVIC, J.; TADIC, V.; DIMITRIJEVIC, S.; STAMENIC, M.; PETROVIC, S.; ZIZOVIC, I. Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar “Cacanska Bestrna”. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 274–281, 2014.

KABABICK, J. P. Phytochemical and nutrient composition of freeze-Dried amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8598–8603, 2006.

KAPADIA, G. J.; BALASUBRAMANIAN, V.; TOKUDA, H.; IWASHIMA, A.; HOYOKU, Inhibition of 12-0-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced epstein- barr virus early antigen activation os natural colorantes. **Cancer lettes**, v. 115, n. 2, p. 173-178, 1997.

KRÜGER, E. S.; SOUZA, V. R. D.; SANTOS, J. L.; COUTO, A. F.; FIORAVANTES, J. B.; MOREIRA, A. S. Análise de Antocianinas em pré-mixes de framboesa por pH diferencial e pH único. **XXII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas**, 2013.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LACERDA, E. C. Q.; FREIRE, A. S.; BRAZ, B. F.; SANTELLI, R. E.; TORRES, A. G.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. C. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422-433, 2015.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. **Hortiscience**, v.7, n.1, p.83-84,1972.

LIMA, V. L. A. G; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 92-94. 2005.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 1 ed. São Paulo, 2006. p. 640.

LOURENÇO, A. T. C. **Efeitos do ultrassom de alta intensidade sob pressão na redução de *listeria monocytogenes* em extrato de carne bovina**. 2012. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Pós Graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos, São José do Rio Preto, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2012.

MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 462-470, 2012.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. D. . Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim Ceppa**, v. 24, n. 1, p. 59–82, 2006.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quimica Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218–1223, 2008.

NOVELLO, A. A. **Extração de antocianinas dos frutos do açaí da mata atlântica (*Euterpe edulis* Martius) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos apoe - / -** . 2011. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

OLIVEIRA, A. G.; COSTA, M. C. D.; ROCHA, S. M. B. M. Functional benefits of açai berry in the prevention of cardiovascular diseases. **Journal of Amazon Health Science**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2015.

OLIVEIRA, M. S. P. **Biologia floral do açaizeiro em Belém, PA. Belém: Embrapa Amazônia Oriental**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 26 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 8), 2002.

PEDRO, A. C.; GRANATO, D.; ROSSO, N. D. Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. **Food Chemistry**, v. 191, p. 12–20, 2016.

PINHO, L.; SOUZA, P. N. S.; SOBRINHOL, E. M.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, p. 326–331, 2012.

POMPEU, D. R.; SILVA, E. M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using response surface methodology. **Bioresouce Technology**, v. 100, n. 23, p. 6076-6082, 2009.

PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape

(*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1076–1080, 2013.

POULOSE, S.M.; FISHER, D.R.; LARSON, J.; BIELINSKI, D.F.; RIMANDO, A.M.; CAREY, A.N.; SCHAUSS, A.G.; SHUKITT-HALE, B. Anthocyanin-rich açai (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit pulp fractions attenuate inflammatory stress signaling in mouse brain BV-2 microglial cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n.4, p.1084–1093, 2012.

RAMARATHNAM, N.; OSAWA, T.; OCHI, H.; KAWAKISHI, S. The contribution of plant food antioxidants to humans health. **Trends in Food Science e tecnologia**, v. 6, n. 3, p. 75-82, 1995.

REIN, M. **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins**. 2005. 87f. Dissertação (Mestrado em Applied Chemistry and Microbiology) - Department of Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry, Helsinki, 2005.

RIBEIRO, L. DE O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. DE S. S. Avaliação da Composição Centesimal , Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçai (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 4, p. 5–16, 2011.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238–244, 2008.

RODRIGUES-SAONA, L. E.; WROLSTAD, R. E. Extractions, Isolation, and purification of anthocyanins. **Current Protocols in Foods Analytical Chemistry**, F1.1.1-F1.1.11, 2001.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURACALIXTO, F., MANCINI FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996–1002, 2010.

SCHAUS, A. G. et al. Phytochemical and nutrient composition of freeze-Dried amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8598–8603, 2006

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açais de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius submetidos a tratamentos para sua conservação**. 2008. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2008.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 53, p. 10–23, 2012.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*myrciaria* ssp .). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 429–436, 2010.

SILVA, P. P. M.; CARMO, L. F.; SILVA, G. M.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; CASEMIRO, R. C.; SPOTO, M. H. F. Physical, chemical, and lipid composition of Juçara (*Euterpe edulis* mart.) Pulp. **Alimentos e Nutrição = Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 7–13, 2013.

SUI, X.; DONG, X.; ZHOU, W. Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant capacity of two anthocyanins in aqueous solution. **Food Chemistry**, v. 163, p. 163–170, 2014.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de Métodos para Quantificação de Antocianinas. **Ceres**. v. 55, p. 297-304, 2008.

VIEIRA, G. S.; CAVALCANTE, R. N.; MEIRELES, A. A.; HUBINGER, M. D. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 2, p. 196–204, 2013.

WANG, B. C.; HE, R.; LI, Z. M. The stability and antioxidant activity of anthocyanins from blueberry. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 1, p. 42–49, 2010.

WANG, W. D.; STONES, G.D. Mini-review – Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Letters**, v. 269, p. 281–290, 2008.

YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; VEIGA-JÚNIOR, V. F. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, v. 179, p. 137–151, 2015.

4. OBJETIVO

4.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar a extração de polifenóis e antocianinas de jussara.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as características físico-químicas na polpa de jussara tais como: umidade, acidez titulável, pH, cinzas, lipídios, proteínas, cor, teor de antocianinas, conteúdo fenólico total e atividade antioxidante;
- Identificar as principais antocianinas na polpa de jussara por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Otimizar a extração dos compostos bioativos de jussara, avaliando o efeito de diferentes concentrações de soluções extratoras e da razão solução:polpa no teor de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante dos extratos;
- Avaliar a extração assistida por ultrassom, investigando o efeito da potência e da temperatura na extração de antocianinas, fenólicos e atividade antioxidante de jussara.

CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius)

RESUMO

A palmeira jussara (*Euterpe edulis* Martius), nativa da Mata Atlântica, produz um fruto conhecido como jussara, de características próximas ao açaí da Amazônia. É um fruto arredondado, de coloração escura devido à grande presença de antocianinas, um pigmento natural com propriedades benéficas à saúde. Além disso, esse fruto é rico em compostos fenólicos e apresenta elevada atividade antioxidante. Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar a caracterização físico-química, de compostos bioativos e atividade antioxidante do jussara. Foi observado que a polpa de jussara apresentou pH de 5,06, acidez de 0,19% de ácido cítrico, umidade de 89,64%, cinzas de 0,39%, lipídeos 3,33% e 0,82% de proteína. A polpa apresentou alto teor de compostos fenólicos (1226,39 mg de ácido gálico equivalente.100g⁻¹), atividade antioxidante (16,06 µmol Trolox.g⁻¹) e antocianinas (298,86 mg de cianidina 3-glicosídeo.100g⁻¹), quando comparada a dados da literatura de outras frutas. A antocianina cianidina 3- rutinosídeo foi a majoritária no jussara, quando identificada por CLAE. Dessa forma, concluiu-se que o jussara é rica em compostos bioativos, apresentando potencial para ser utilizado como corante natural, substituindo os corantes sintéticos, uma vez que, esses podem causar danos à saúde, e já as antocianinas, apresentam benefícios.

Palavras-chave: antocianinas, compostos fenólicos, antioxidante, *Euterpe edulis* Martius.

ABSTRACT

The jussara palm (*Euterpe edulis* Martius), native to the Atlantic Forest, produces a fruit known as jussara, of similar characteristics to the Amazon açai. It is a rounded fruit, dark in color due to the large presence of anthocyanins, a natural pigment with properties beneficial to health. In addition, this fruit is rich in phenolic compounds and presents a high antioxidant activity. Thus, the objective of this study was to perform the physicochemical characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of jussara. It was observed that the jussara pulp showed pH of 5.06, acidity of 0.19% of citric acid, moisture content of 89.64%, ash of 0.39%, lipids of 3.33% and protein of 0.82%. The pulp showed high content of phenolic compounds (1226.39 mg AGE.100g⁻¹), antioxidant activity (16.06 μ mol Trolox.g⁻¹) and anthocyanins (298.86 mg of cyanidin 3-glucoside.100g⁻¹) when compared based in literature data to other fruits. Cyaniding 3-rutinoside was the majority anthocyanin in jussara when identified by HPLC. In this way, it was concluded that the jussara is rich in bioactive compounds, showing the potential to be used as a natural colorant, replacing synthetic ones, since these can cause damage to health, while the anthocyanins present benefits.

Keywords: anthocyanins, phenolic compounds, antioxidant activity, *Euterpe edulis* Martius.

1. INTRODUÇÃO

A palmeira jussara (*Euterpe edulis* Martius), pertencente à família Arecaceae, é típica da Mata Atlântica podendo ser encontrada desde o sul da Bahia até o litoral do Rio Grande do Sul (SILVA et al., 2013). Seu fruto é conhecido como jussara e possui características próximas ao açaí, fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea* Martius), produzido na região Amazônica (INADA et al. 2015).

Além do fruto, a palmeira (*Euterpe edulis* Martius) produz palmito, considerado superior em relação as demais espécies de *Euterpe*. No entanto, para a extração do palmito é necessário o corte da árvore, o que tem levado à extinção da espécie. Dessa forma, o cultivo da palmeira para a extração do jussara é considerado ecologicamente viável, uma vez que para a obtenção dos frutos não se faz necessário o corte da palmeira, o que contribui para a preservação da espécie (SILVA, 2013).

O cultivo do jussara tem se expandido no Espírito Santo, principalmente na região sul, tornando-se uma importante fonte de renda para os agricultores familiares desses locais, que comercializam fruto e polpa, que podem ser utilizados para a fabricação de produtos como geléias, doces, bolos e sorvetes e recheios para bombons (CRUZ, 2008).

O jussara é um fruto arredondado, de apenas uma semente, que corresponde a 73,46% do fruto (OLIVEIRA, 2002). Essa semente é revestida por uma casca fina de coloração roxa escura quase negra devido à grande presença de antocianinas, um pigmento natural que pode ser encontrado em flores e frutos, de grande interesse das indústrias de alimentos, por se tratar de um potencial substituto aos corantes artificiais. Além de se tratar de um corante que não causa danos à saúde, ao contrário dos artificiais, as antocianinas possuem propriedades benéficas, devido à sua ação antioxidante, anti-inflamatória (OLIVEIRA; COSTA; ROCHA, 2015), propriedade anticarcinogênica (HAGIWARA et al., 2001; CAI et al., 2004; WANG; STONER, 2008) e antiviral (KAPADIA et al., 1997).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização físico-química, de compostos bioativos e avaliar a atividade antioxidante da polpa de jussara.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) Alegre/ES, e no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (UFV) Viçosa/MG.

2.1 Matéria-prima

A polpa de jussara (*Euterpe edulis* Martius) foi adquirida de agricultores da região do Caparaó, Sul do Estado do Espírito Santo. As polpas foram estocadas a -20 °C, até o momento dos ensaios de extração.

2.2 Caracterização físico-química da polpa de jussara

As análises de caracterização da matéria-prima foram realizadas em três repetições e em triplicata. Os dados foram expressos em média \pm desvio-padrão.

2.2.1 Determinação de pH

O pH das amostras da polpa de jussara foi determinado em pHmetro digital, (DELAB, DLA) com inserção do eletrodo diretamente na amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). O aparelho foi previamente calibrado e operado de acordo com as instruções do manual do fabricante.

2.2.2 Determinação de acidez titulável total

A determinação de acidez foi realizada nas amostras da polpa de jussara com auxílio de um potenciômetro, de acordo com Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). O resultado foi expresso em porcentagem de ácido cítrico.

2.2.3 Teor de água

O teor de água foi determinado pelo método gravimétrico com uso de estufa (BIOPAR) a 105 °C até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

2.2.4 Determinação de cinzas

O teor de cinzas foi obtido por incineração das amostras em mufla (STECNO - 115) a 550 °C, conforme descrito nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

2.2.5. Determinação de proteínas

A análise do teor de nitrogênio total foi realizada pelo método de Kjeldahl modificado, baseando-se nas etapas de digestão ácida da amostra, destilação da amostra utilizando destilador de nitrogênio (Marconi MA-0,36) e titulação, conforme descrito nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). Para conversão do teor de nitrogênio encontrado para proteínas foi usado o fator de 6,25.

2.2.6. Determinação de lipídios

O teor de lipídios foi determinado pelo método de extração direta em Soxhlet (Marconi, MA-491), utilizando éter de petróleo como solvente, conforme descrito nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

2.2.7 Antocianinas totais

As antocianinas totais das amostras da polpa de jussara foram extraídas com etanol 70% acidificado com HCl a pH 2,0, de acordo com a metodologia descrita por Francis (1982). A extração foi conduzida à temperatura de refrigeração (8 ± 2 °C) e ao abrigo da luz. O pigmento foi quantificado pelo método do pH diferencial, de acordo com Giusti e Wrolstad (2001), com auxílio de um espectrofotômetro (BEL photonics; SP 2000 UV). Para o cálculo do teor de antocianinas, foi realizada diluição do extrato original, e o teor total de antocianina foi expresso em cianidina-3-glicosídeo (Massa molar de 490,0 g.mol⁻¹). Para a leitura foi utilizado o coeficiente de absorvidade molar de 26900 L.cm⁻¹.mol⁻¹, em comprimento de onda de 510 nm.

2.2.8 Compostos Fenólicos totais

O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado pelo ensaio do reagente Folin-Ciocalteu, com base em metodologia adaptada de Singleton e Rossi (1965). Foi

diluído 0,6 mL do extrato da matéria-prima em 3,0 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada (1:10 v/v); após 3 minutos de repouso ao abrigo da luz, foram adicionados 2,4 mL de solução saturada de Na_2CO_3 (7,5 % m/v). A absorbância foi determinada a 760 nm em espectrofotômetro, após 1 hora de repouso em ausência de luz. O IPT foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico (0-200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente ($\text{mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$).

2.2.9 Atividade Antioxidante

A atividade anti-radical livre foi realizada para a polpa de jussara utilizando-se o método de ensaio do radical ABTS. Para a formação do radical $\text{ABTS}^{+\cdot}$, uma solução aquosa de ABTS 7 mM foi adicionada a uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM. Esta mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 16 horas. Após este tempo a absorbância foi corrigida para 0,70 ($\pm 0,02$) a 734 nm com adição de etanol 80% (RE et al., 1999) em espectrofotômetro. A 3,5 mL da solução radical $\text{ABTS}^{+\cdot}$ foram adicionados 0,5 mL de cada extrato da matéria-prima, e realizada leitura em espectrofotômetro após 6 minutos de reação. Foi utilizado o Trolox como padrão e os resultados foram expressos em equivalente de Trolox ($\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$).

2.2.10 Identificação e quantificação das principais antocianinas do jussara

As antocianinas da polpa de jussara foram extraídas utilizando solução de metanol 50% (v/v) e ácido clorídrico 37% (v/v) em banho metabólico com agitação recíprocante, tipo Dubnoff, por 2 horas. Após a extração, as amostras foram centrifugadas e mantidas em freezer ($-18\text{ }^\circ\text{C}$) até o momento das análises. A análise cromatográfica foi realizada conforme a metodologia adaptada de Schauss et al. (2006), no qual foi empregado sistema CLAE-DAD com detecção a 520 nm; fase móvel-água ultrapura, pH 2, ajustado com ácido fórmico: acetonitrila (89:11 v/v); fluxo da fase móvel: $1,0\text{ mL}\cdot\text{minuto}^{-1}$; tempo de corrida de aproximadamente, 45 minutos. Foi utilizada coluna C18 (Phenomenex Gemini, 250 x 4,6 mm, 5 μm), equipada com coluna de guarda (Phenomenex ODS C18, 4 mm x 3 mm), sendo cianidina 3-glicosídeo e cianidina 3-rutinosídeo os padrões utilizados da marca Sigma-Aldrich.

2.2.11 Análise colorimétrica

A polpa de jussara, foi caracterizada pela leitura direta de reflectância do sistema de coordenadas retangulares “L*” (luminosidade), “a*” (intensidade de vermelho e verde) e “b*” (intensidade de amarelo e azul), empregando-se a escala de cor CIELAB, com iluminante D₆₅ e ângulo de observação de 10°, utilizando-se colorímetro Minolta. Os valores de “C*” (cromaticidade ou saturação de cor) e h (ângulo de tonalidade cromática) foram calculados a partir dos dados de a* e b*, pelas Equações 1 e 2.

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$h = \arctan(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 2})$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios obtidos nas análises de caracterização físico-química da polpa de jussara estão apresentados na Tabela 1, bem como os teores de antocianinas, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Observa-se que a polpa de jussara possui pH de 5,06, elevado quando comparado a outras frutas. Barros et al. (2015) caracterizando o jussara, encontraram pH de 5,07, bem próximo ao encontrado no presente estudo.

Tabela1. Valores médios da caracterização físico-química da polpa de jussara

Análise	Valores médios
pH	5,06 ± 0,04
Acidez (% m/m de ácido cítrico)	0,19 ± 0,01
Teor de água (%)	89,64 ± 0,24
Cinzas (%)	0,39 ± 0,01
Lipídios (%)	3,33 ± 0,08
Proteína (%)	0,82 ± 0,11
Antocianina total (mg de cianidina 3-glicosídeo.100g ⁻¹)	298,86 ± 27,68
Atividade Antioxidante (µmol Trolox.g ⁻¹)	16,06 ± 1,38
Conteúdo Fenólico total (mg AGE.100g ⁻¹)	1226,39 ± 21,08

* Resultados expressos em base úmida

O valor de acidez encontrado no presente estudo foi exatamente o mesmo (0,19% de ácido cítrico) encontrado por Ribeiro et al. (2011) ao caracterizarem a polpa de jussara (*Euterpe Edulis* Martius). No entanto, Barros et al. (2015) encontraram valor superior de acidez (0,23 % de ácido cítrico) em polpa de jussara submetida a pasteurização.

O teor de água da polpa de jussara analisada, apresentou valor próximo à 88,9 % encontrado por Ribeiro et al. (2011). Silva et al. (2013) também encontraram teor de água próximo ao do presente estudo (89,43%) ao determinar composição centesimal em polpa de jussara.

As cinzas da polpa de jussara determinadas no presente estudo (0,39 %) apresentaram valor próximo ao encontrado por Ribeiro et al. (2011) que foi de 0,41% ao caracterizar a polpa desse fruto. Tanto Silva et al. (2013) quanto Cruz (2008), encontraram 0,4 % de cinzas ao determinar a composição centesimal da polpa do fruto da palmeira jussara. Além disso, de acordo com Tabela de Composição de Alimentos (TACO, 2011) o teor de cinzas em polpa de açaí é de 0,3 %, valor próximo ao encontrado no presente estudo.

O conteúdo lipídico da polpa de jussara apresentou valor próximo ao quantificado na Tabela de Composição de Alimentos (TACO, 2011) para açaí que foi de 3,9 %, no entanto, Vieira et al. (2013) encontraram 5,9 % de lipídios em jussara, valor superior ao encontrado no presente estudo.

O teor de proteínas da polpa de jussara foi de 0,82 %, valor muito próximo ao quantificado para açaí pela Tabela de Composição de Alimentos (TACO, 2011) que foi de 0,80 %. Cruz (2008) encontrou o teor de 1,2 %, valor um pouco maior que o obtido no presente estudo. Vieira et al. (2013) também encontraram valor elevado (1,15%) quando comparado ao encontrado no presente estudo.

O teor de antocianina total do presente estudo (298,86 mg.100g⁻¹) foi superior ao encontrado por Ribeiro et al. (2011) e Rufino (2010) que foram de 235,80 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ e de 111 mg.100g⁻¹ de polpa de jussara, respectivamente. Borges et al. (2011) verificaram diferentes quantidades do pigmento (72,50 a 409,85 mg.100g⁻¹) ao analisar polpa de jussara provenientes de diferentes regiões de Santa Catarina. Teixeira et al. (2008) avaliaram o teor de antocianinas em diferentes fontes, e encontraram 25,09 mg.100g⁻¹ em morango, 61,44 mg.100g⁻¹ em

repolho roxo, e 221,45 mg.100g⁻¹ em sabugueiro, ambos os valores inferiores ao encontrado em jussara no presente estudo.

Compostos fenólicos totais em polpa de jussara foram quantificados por Borges et al. (2011) que encontraram até 684,00 mg de AGE.100g⁻¹. Já no estudo de Saavedra (2008) foi encontrado 1090,00 mg de AGE.100g⁻¹ em polpa congelada de jussara, valor ainda inferior ao encontrado no presente estudo. Vizzotto e Pereira (2011) encontraram 641 mg de AGE.100g⁻¹ em amora, valor inferior a 1226,39 AGE.100g⁻¹ encontrado para jussara no presente estudo.

Borges et al. (2011) avaliaram a atividade antioxidante e encontraram 16,96 µmol Trolox.g⁻¹, valor próximo ao encontrado para a polpa de jussara neste estudo. Abe et al. (2007) encontraram 7,6 µmol Trolox.g⁻¹ em uvas Niágara, valor inferior ao encontrado no presente estudo em jussara que foi de 16,06 µmol Trolox.g⁻¹.

Os resultados de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante mostraram que o jussara se destacou em relação a outros frutos, assim, sugere-se a utilização da polpa de jussara para a obtenção de pigmento. Além disso, a polpa de jussara analisada no presente estudo mostrou-se superior a polpa de outros estudos, em relação a bioativos e atividade antioxidante, isso pode ter ocorrido pois as características dos frutos são influenciadas por fatores como solo, clima, manejo, incidência solar e estágio de maturação.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores das coordenadas colorimétricas L, a*, b*, c* (saturação da cor) e h (ângulo de tonalidade cromática) da polpa de jussara.

Tabela 1. Coordenadas colorimétricas da polpa de jussara (*Euterpe edulis* Martius)

L	a*	b*	C*	h
10,57±0,22	6,99±0,21	-0,58±0,07	7,01±0,22	355,22±0,46

De acordo com a Tabela 2, a polpa de jussara apresentou baixa luminosidade (L), indicando coloração próxima ao preto. A coordenada a*, que indica a intensidade do verde ao vermelho, por apresentar valor positivo, apresentou uma tendência à cor vermelha, já a coordenada b* que relaciona a intensidade do azul ao amarelo, por apresentar valor negativo, indicou tendência para coloração azul. O croma (C) seguiu

a mesma tendência dos valores da coordenada a^* , indicando que o parâmetro a^* foi mais expressivo na determinação da cromaticidade da polpa de jussara. O ângulo de tonalidade (H) de $355,22^\circ$ indica que a tonalidade da polpa de jussara se apresenta no quarto quadrante no sólido de cor (entre as cores azul e vermelho), e seu valor mais próximo à 360° indica maior tendência à coloração vermelha da polpa.

Altoé (2014) avaliou a cor da polpa de jussara e encontrou os parâmetros de L (4,55), a^* (8,89), b^* (-0,15), C^* (8,94) e h (359,04), valores próximos ao encontrado no presente estudo, indicando também que a polpa de jussara apresenta baixa luminosidade, portanto, maior proximidade com o preto, além de tendência à coloração vermelha e azul, com maior influência da coloração vermelha.

Os resultados da identificação e quantificação das principais antocianinas presentes na polpa de jussara realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), estão apresentados nas Figuras 1 e 2, e na Tabela 3, respectivamente.

Tabela 2. Identificação e quantificação das principais antocianinas presentes na polpa de jussara

Principais antocianinas	Quantidade (mg.g^{-1})
cianidina 3-glicosídeo	0,28
cianidina 3-rutinosídeo	0,61

O cromatograma apresentou dois picos (Figura 1), os quais foram identificados como cianidina 3-glicosídeo e cianidina 3-rutinosídeo, por meio da comparação dos tempos de retenção dos picos com os respectivos padrões (Figura 2). Esses compostos foram identificados como as antocianinas predominantes de jussara por Sousa de Brito et al. (2007) e Bicudo (2014). Essas também foram identificadas em açaí por Schauss et al. (2006). Além disso, em ambos os trabalhos, a cianidina 3-rutinosídeo apresentou quantidades superiores à cianidina 3-glicosídeo, conforme verificado no presente estudo.

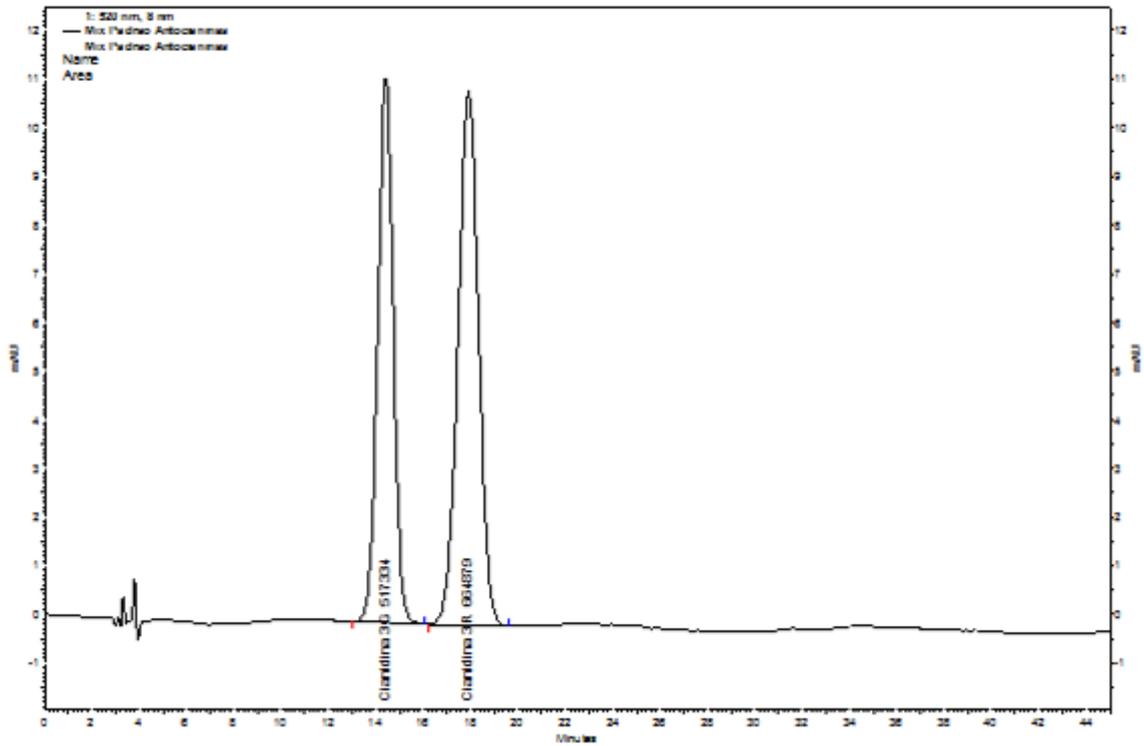


Figura 1. Cromatograma dos padrões de antocianinas

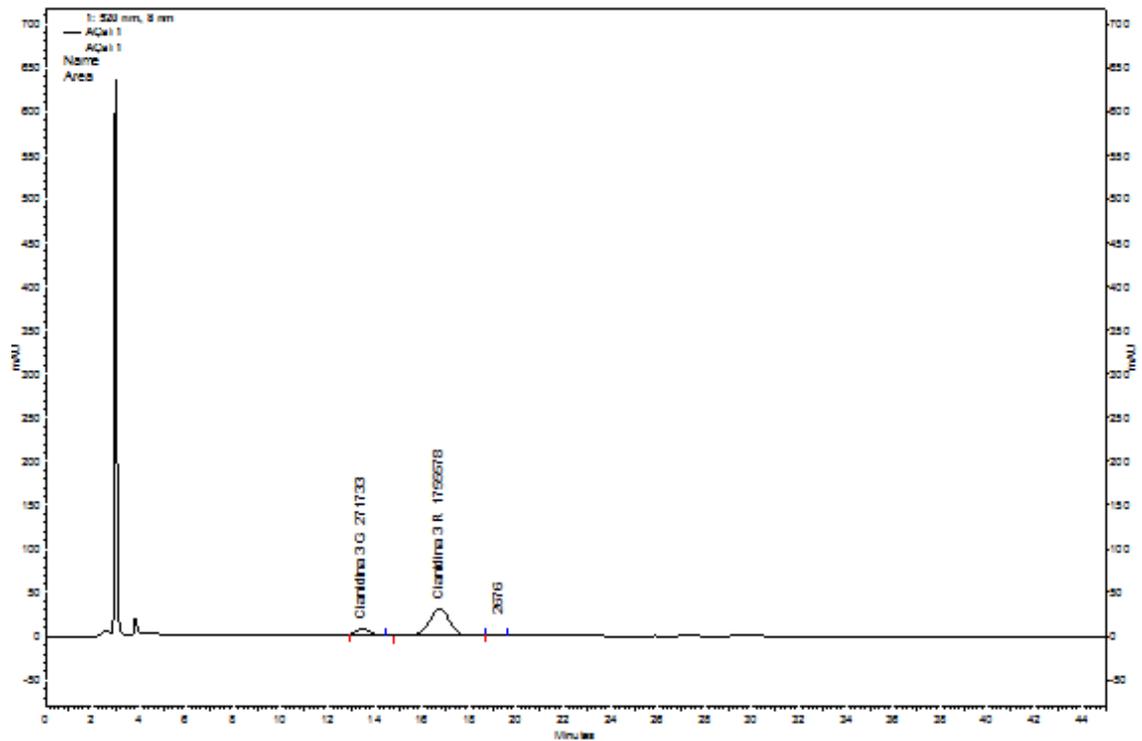


Figura 2. Cromatograma da polpa de jussara

4. CONCLUSÃO

A caracterização da polpa de jussara, permite concluir que se trata de uma polpa de coloração escura, rica em lipídios, e de baixa acidez. Além disso, a mesma se destaca em relação ao teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antocianinas quando comparada a outros frutos.

Desta forma, sugere-se que a polpa de jussara possa ser empregada como corante natural substituindo os corantes sintéticos, principalmente na indústria de alimentos, pois além de não causar danos à saúde, possui propriedades benéficas.

5. REFERÊNCIAS

- ABE, L.T.; MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.
- ALTOÉ, M. F. **Extração de fenólicos e antocianinas de açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) por ultrassom**. 2015. 45 f. (Trabalho de conclusão de curso). Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.
- BARROS, E. C. M.; COSTA, G. N. S.; RIBEIRO, L. O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. S. S. **Efeitos da pasteurização sobre características físico-químicas, microbiológicas e teor de antocianinas da polpa de juçará (*Euterpe edulis* Martius)**. Revista Teccen, v. 8, n. 1, p. 1-32, 2015.
- BICUDO, M. O. P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de juçara (*Euterpe edulis*): aspectos de interesse para a indústria de alimentos**. 2007. 143 f. (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2007.
- BORGES, G. S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; ZAMBIAZI, R. C.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, 2011.
- CRUZ, A. P. G. **Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante**. 2008. 104 f. (Mestrado em Bioquímica). Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. New York, Academic Press, 1982. p. 181-207.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 217–225, 2003.

HAGIWARA, A.; MIYASHITA, K.; NAKANISHI, T.; SANO, M.; TAMANO, S.; KADOTA, T.; KODA, T.; NAKAMURA, M.; IMAIDA, K.; ITO, N.; SHIRAI, T. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-16-phenylimidazol (4,5- b) pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. **Cancer Letters**, v. 171, p. 17-25, 2001.

INADA, K. O. P.; OLIVEIRA, A. A.; REVORÊDO, T. B.; MARTINS, A. B. N.; LACERDA, E. C. Q.; FREIRE, A. S.; BRAZ, B. F.; SANTELLI, R. E.; TORRES, A. G.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. C. **Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions**, Journal of Functional Foods, v. 17, p. 422–433. 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo: IMESP, 2005.

KAPADIA, G. J.; BALASUBRAMANIAN, V.; TOKUDA, H.; IWASHIMA, A.; HOYOKU, Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced epstein- barr virus early antigen activation os natural colorantes. **Cancer lettes**, v. 115, n. 2, p. 173-178, 1997.

OLIVEIRA, A. G.; COSTA, M. C. D.; ROCHA, S. M. B. M.; Benefícios funcionais do açaí na prevenção das doenças cardiovasculares. functional benefits of açaí berry in the prevention of cardiovascular diseases. **Jounal of Amazon Health Science**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2015.

OLIVEIRA, M. S. P. **Biologia floral do açaizeiro em Belém, PA. Belém: Embrapa Amazônia Oriental**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 26 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 8), 2002.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RIBEIRO, L. DE O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. DE S. S. Avaliação da Composição Centesimal , Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de juçará (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 4, p. 5–16, 2011.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURACALIXTO, F., MANCINI FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996–1002, 2010.

SAAVEDRA, T. A. **Constituintes Polifenólicos e Propriedades Antioxidantes da Polpa do Fruto da Palmeira Juçara (*Euterpe edulis*)**. 2008. 125 f. (Mestrado em

Alimentos e Nutrição). Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2008.

SCHAUS, A. G. et al. Phytochemical and nutrient composition of freeze-Dried amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8598–8603, 2006.

SILVA, P. P. M.; CARMO, L. F.; SILVA, G. M.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; CASEMIRO, R. C.; SPOTO, M. H. F. Physical, chemical, and lipid composition of Juçara (*euterpe edulis* mart.) Pulp. **Alimentos e Nutrição = Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 7–13, 2013.

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

SOUSA DE BRITO, E. ARAÚJO, M. C. P.; ELESBÃO, A. R.; COLLEEN, C.; BEVERLY, C.; JANET, N. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 23, p. 9389–9394, 2007.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TACO). 4ª ed. Campinas-SP. 2011.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de Métodos para Quantificação de Antocianinas. **Ceres**. v. 55, p.297-304, 2008.

VIEIRA, G. S. et al. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 2, p. 196–204, 2013.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Amora-preta (*Rubus* sp.): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1209–1214, 2011.

WANG, W. D.; STONES, G.D. Mini-review – Anthocyanins and their role in cancerprevention. **Cancer Letters**, v. 269, p. 281–290, 2008.

Capítulo II

OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO CONVENCIONAL DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE JUSSARA (*Euterpe edulis* MARTIUS)

RESUMO

Os corantes têm sido amplamente utilizados nas indústrias de alimentos, pois sabe-se que a cor é um atributo de grande importância em produtos alimentícios. Assim, as antocianinas, corantes facilmente encontrados na natureza, podem ser uma boa opção de substituição aos sintéticos. O jussara destaca-se como fonte de antocianinas, apresentando coloração roxa escura. No processo tradicional de extração de antocianinas, fatores como tipo e concentração de solvente extrator, razão solução:polpa e tempo de extração são de grande relevância. Assim, o objetivo do presente estudo foi otimizar a extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante presentes na polpa de jussara, avaliando o efeito de diferentes tipos e concentrações dos solventes extratores e razão solução:polpa por meio de delineamentos compostos centrais rotacionais. Além disso, foram testados dois métodos para a extração de antocianinas, o de pH único e o de pH diferencial. Para definir o melhor tempo do processo, optou-se por estudar o comportamento cinético da extração. Optou-se por trabalhar com extração pelo método do pH único já que este apresentou menor variação entre os dados. Quanto ao tempo, foi observado que para a polpa de jussara a extração ocorria de forma instantânea, e dessa forma optou-se por padronizar a extração em 15 minutos. Não foi observada diferença entre os distintos solventes extratores, assim, sugeriu-se a utilização de etanol, uma vez que esse apresenta menor custo, menor toxicidade, além de ser permitido para uso em alimentos. Em relação à condição do procedimento, destacou-se o ensaio com 50% de solução etanólica e 15,6 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa, no qual foi possível obter bons resultados de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Palavras-chave: Parâmetros de extração, antocianinas, atividade antioxidante, compostos fenólicos, jussara.

ABSTRACT

The colorants have been widely used in the food industries, since it is known that the color is an attribute of great importance in food products. Thus, anthocyanins, colorants easily found in nature, can be a good option to substitute the synthetic ones. The jussara stands out as a source of anthocyanins, with dark purple color. In the traditional process of anthocyanin extraction, factors such as type and concentration of solvent extractor, ratio solution:pulp and extraction time are of great relevance. Thus, the objective of this study was to optimize the extraction of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity present in jussara pulp, evaluating the effect of different types and concentrations of the solvent extractors and the ratio solution:pulp with central composite rotational design. Furthermore, two methods for the extraction of anthocyanins were tested, the single pH and differential pH. To define the best process time, it was decided to study the kinetics behavior of the extraction. It was decided to work with extraction by single pH method since this showed less variation between the data. As for the time, it was observed that for the jussara pulp the extraction occurred instantaneously, therefore it was decided to standardize the extraction in 15 minutes. No difference was observed between the different solvent extractants, so it was suggested the use of ethanol, as this one offers lower cost, lower toxicity, besides being allowed its use in food. Regarding the condition of the procedure, the highlight was the assay with 50% extraction solution and 15.65 mL.g⁻¹ of solution:pulp ratio, in which it was possible to obtain good results of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity.

Keywords: optimization, extraction, bioactive compounds, jussara

1. INTRODUÇÃO

A coloração de um produto tem grande influência na aceitação deste pelos consumidores, com isso, os corantes alimentícios têm sido amplamente adicionados aos alimentos com a finalidade de restaurar a aparência original do alimento, tornar o produto mais atraente, fortificar as cores presentes e colorir os desprovidos de cor (CONSTANT et al., 2002). Os corantes disponíveis para uso em alimentos se dividem em duas classes, os artificiais e os naturais. Os artificiais têm seu uso restringido nos países desenvolvidos, pois sabe-se que estes podem causar danos à saúde, como alergias e hiperatividade em crianças (OLIVEIRA et al., 2010). Dessa forma, os corantes naturais surgem como uma boa alternativa para a incorporação no alimento.

Dentre os corantes naturais, as antocianinas representam uma das maiores classes de substâncias coloridas do reino vegetal, sendo encontradas amplamente em flores e frutos. É um pigmento que além de conferir coloração atrativa, possui benefícios à saúde, devido à sua ação antioxidante, anticarcinogênica (VIROT et al., 2010) e antiviral (KAPADIA et al. 1997), além de contribuir para a redução do risco de doenças como câncer e doenças cardiovasculares (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012).

O jussara é um fruto de coloração roxa escura devido à grande presença de antocianinas. De acordo com os trabalhos realizados, é rico em compostos antioxidantes, porém ainda pouco explorado com relação à aplicação em sistemas alimentícios.

O processo de extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante vem sendo muito estudado, pois ainda é um desafio quando se trata das condições de extração. A extração por meio de solventes orgânicos é uma das mais utilizadas, sendo o metanol, o etanol e a acetona, de grande capacidade extratora. Diversos autores também apontam concentração de solvente e razão solução:polpa como fatores de grande relevância na extração de bioativos e compostos antioxidantes (CHEN et al. 2007; BORGES et al. 2011; VIEIRA et al. 2013).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi otimizar a extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante presentes na polpa de jussara, avaliando

o efeito de diferentes tipos e concentrações dos solventes extratores e razão solução:polpa, bem como definir o melhor tempo e o melhor método de extração.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre/ES.

2.1 Matéria-prima

A polpa de jussara (*Euterpe edulis* Martius) foi adquirida de agricultores da região do Caparaó, Sul do Estado do Espírito Santo. As polpas foram estocadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento dos ensaios de extração.

2.2 Análises quantitativas

2.2.1 Antocianinas totais pelo método pH único

As antocianinas totais foram extraídas de acordo com a metodologia descrita por Francis (1982) com solução etanólica 70% (v/v), acidificada a pH 2,0 com ácido clorídrico e deixada em repouso por 24 horas sob refrigeração ($8 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) ao abrigo da luz. O pigmento foi quantificado pelo método do pH único conforme Lees e Francis (1972), com auxílio de um espectrofotômetro (BEL photonics; SP 2000 UV). Para o cálculo do teor de antocianinas, foi realizada diluição do extrato original, e o teor total de antocianina foi expresso em cianidina-3-glicosídeo (Massa molar de $490,0\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Para a leitura foi utilizado o coeficiente de absorvidade molar de $26900\text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$, em comprimento de onda de 510 nm.

2.2.2 Antocianinas totais pelo método pH Diferencial

As antocianinas totais das amostras da polpa de jussara foram extraídas com etanol 70% acidificado com HCl a pH 2,0, de acordo com a metodologia descrita por Francis (1982). A extração foi conduzida a temperatura de refrigeração ($8 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e ao abrigo da luz. O pigmento foi quantificado pelo método do pH diferencial, de acordo com Giusti e Wrolstad (2001), com auxílio de um espectrofotômetro (BEL photonics; SP 2000 UV). Para o cálculo do teor de antocianinas, foi realizada diluição do extrato

original, e o teor total de antocianina foi expresso em cianidina-3-glicosídeo (Massa molar de 490,0 g.mol⁻¹) Para a leitura foi utilizado o coeficiente de absorvidade molar de 26900 L.cm⁻¹.mol⁻¹, em comprimento de onda de 510 nm.

2.2.3 Conteúdo fenólico total

O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado pelo ensaio do reagente Folin-Ciocalteu, com base em metodologia adaptada de Singleton e Rossi (1965). Foi diluído 0,6 mL do extrato da matéria-prima, obtido conforme Francis (1982), em 3,0 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada (1:10 v/v); após 3 minutos de repouso ao abrigo da luz, foram adicionados 2,4 mL de solução saturada de Na₂CO₃ (7,5 %; m/v). A absorbância foi determinada a 760 nm em espectrofotômetro, após 1 hora de repouso em ausência de luz. O IPT foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico (0-200 mg.L⁻¹) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente (mg AGE.100g⁻¹).

2.2.4 Atividade antioxidante – ensaio do radical ABTS

A atividade anti-radical livre foi realizada para a polpa de jussara utilizando-se o método de ensaio do radical ABTS. Para a formação do radical ABTS^{•+}, uma solução aquosa de ABTS 7 mM foi adicionada a uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM. Esta mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 16 horas. Após este tempo a absorbância foi corrigida para 0,70 (±0,02) a 734 nm com adição de etanol 80% (RE et al., 1999) em espectrofotômetro. A 3,5 mL da solução radical ABTS^{•+} foram adicionados 0,5 mL de cada extrato da matéria-prima, obtido conforme Francis (1982), e realizada leitura em espectrofotômetro após 6 minutos de reação. Foi utilizado o Trolox como padrão e os resultados foram expressos em equivalente de Trolox (µmol Trolox.g⁻¹).

2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas

A otimização dos parâmetros de extração foi realizada por meio de metodologia de superfície de resposta. Foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) com dois fatores e cinco níveis de cada fator, constituindo um total de 13 experimentos casualizados, sendo quatro fatoriais (combinação dos níveis -1 e +1), quatro axiais (uma variável no nível ± α e as outras no nível zero) e cinco repetições

no ponto central (três variáveis no nível zero) (RODRIGUES; IEMMA, 2014). As variáveis independentes foram concentração da solução em estudo (etanol, acetona ou metanol) e razão solução:polpa. As respostas obtidas foram teor de antocianinas, conteúdo fenólico total e atividade antioxidante.

2.3.1 Primeiro estudo de otimização

2.3.1.1 Efeito da concentração da solução extratora e razão solução:polpa na extração de bioativos do jussara

Foram realizados ensaios de extração e quantificação de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante da polpa de jussara, com diferentes solventes extratores (soluções etanólicas, acetônicas e metanólicas). As variáveis independentes foram concentração das soluções extratoras e razão solução:polpa. Foi utilizado um delineamento composto central rotacional e seus níveis estão apresentados na Tabela 1. Os extratos foram preparados de acordo com a metodologia de Francis (1982), com o tempo de extração de 12 horas. O teor de antocianinas foi quantificado conforme descrito no item 2.2.2. As análises de compostos fenólicos e antioxidantes foram realizadas conforme descrito nos itens 2.2.3 e 2.2.4 respectivamente.

Tabela 1. Valores codificados e reais das concentrações de soluções extratoras (%) e razão solução:polpa (mL.g^{-1}) utilizados nos ensaios com soluções etanólicas, metanólicas e acetônicas no primeiro delineamento composto central rotacional

Ensaio	Concentração da solução extratora em água (%)	Razão solução:polpa (mL.g^{-1})	Concentração da solução extratora em água (%)	Razão solução:polpa (mL.g^{-1})
1	1	-1	50,0	7,0
2	1	1	50,0	13,0
3	-1	-1	90,0	7,0
4	-1	1	90,0	13,0
5	0	-1,41	70,0	5,7
6	0	1,41	70,0	14,2
7	-1,41	0	41,7	10,0
8	1,41	0	98,3	10,0
9	0	0	70,0	10,0
10	0	0	70,0	10,0
11	0	0	70,0	10,0
12	0	0	70,0	10,0
13	0	0	70,0	10,0

2.3.1.2 Efeito do método de quantificação de antocianinas do jussara

A fim de verificar qual a metodologia mais indicada de extração de antocianinas da polpa de jussara, foi realizado o estudo de comparação entre os métodos de quantificação pelo pH único e pH diferencial.

Para tal, as antocianinas totais foram extraídas de acordo com a metodologia descrita por Francis (1982) com solução etanólica 70%, acidificada a pH 2,0 com ácido clorídrico e deixadas em repouso por 24 horas sob refrigeração. Após este tempo, o extrato foi filtrado em papel Whatman 1 em funil de Buchner.

A quantificação do pigmento foi realizada pelos métodos do pH único (LEES e FRANCIS, 1972) e diferencial de acordo com Giusti e Wrolstad (2001). Na quantificação pelo método do pH diferencial, o extrato foi diluído nas soluções tampão de pH 1,0 e pH 4,5 em proporções de (1:25 v/v), e posteriormente foi realizada a leitura de absorvância em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 510 nm e 700 nm. Já na quantificação de antocianinas pelo método do pH único, o extrato foi diluído na proporção de (0,5:10 v/v) em solução de Etanol:HCl (85:15 v/v) e realizada a leitura em espectrofotômetro a 510 nm.

Para o cálculo do teor de antocianinas na amostra em estudo foi considerada a massa molar de 490,0 g.mol⁻¹ e coeficiente de absorvância molar de 26900 L⁻¹. cm⁻¹.mol⁻¹, e o resultado foi expresso em mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ de polpa de jussara. Os dados foram analisados utilizando o teste t pareado, com auxílio do software estatístico R.

2.3.1.3 Efeito do tempo na extração de antocianinas de jussara

Durante a realização do estudo de otimização da razão solução:polpa e concentração da solução extratora, verificou-se ser necessário o estudo da influência do tempo na extração de antocianinas na polpa de jussara, de forma a otimizar este tempo para os estudos subsequentes. Desta forma, optou-se por fazer o estudo da cinética de extração do pigmento. Para o estudo da cinética, as antocianinas das polpas foram quantificadas conforme descrito no item 2.2.1. Os tempos de extração foram: 0; 15; 30; 45; 60; 90; 120; 180; 240; 300 e 360 minutos. O experimento foi realizado em

delineamento em blocos casualizados com 3 repetições, e para análise dos dados foi utilizado o software estatístico R.

2.3.2 Segundo estudo de otimização

Com base nos resultados observados no primeiro estudo de otimização (item 2.3.1), foi proposto um novo DCCR com o objetivo de expandir o intervalo de estudo para a variável razão solução:polpa. Dessa forma, foram realizados ensaios variando as concentrações aquosas dos solventes (etanol, acetona e metanol), e novos valores de razão solução:polpa (Tabela 2). Foi realizada análise de antocianinas utilizando o método do pH único, conforme Lees e Francis (1972) (item 2.2.1), com o tempo de extração de 15 minutos com base nos resultados obtidos no primeiro estudo de otimização (estudo da cinética – 2.3.1.3 e na comparação entre os métodos de extração item 2.3.1.2).

Tabela 2. Valores codificados e reais das concentrações de soluções extratoras e razão solução:polpa (mL.g^{-1}) utilizados nos ensaios com soluções etanólicas, metanólicas e acetônicas no segundo delineamento composto central rotacional

Ensaio	Concentração da solução extratora em água (%)	Razão solução:polpa (mL.g^{-1})	Concentração da solução extratora em água (%)	Razão solução:polpa (mL.g^{-1})
1	-1	-1	50	4,3
2	-1	1	50	15,6
3	1	-1	90	4,3
4	1	1	90	15,6
5	0	-1,41	70	2,0
6	0	1,41	70	18,0
7	-1,41	0	41,7	10,0
8	1,41	0	98,3	10,0
9	0	0	70	10,0
10	0	0	70	10,0
11	0	0	70	10,0
12	0	0	70	10,0
13	0	0	70	10,0

2.3.3 Terceiro estudo de otimização

O terceiro estudo de otimização utilizando delineamento composto central rotacional foi proposto de acordo com os resultados obtidos nas análises de otimização realizadas anteriormente (item 2.3.1 e 2.3.2), com o objetivo de ampliar o intervalo

analisado para ambas as variáveis (concentração da solução extratora e razão solução:polpa) (Tabela 3). A análise do teor de antocianinas da polpa de jussara foi realizada utilizando o método do pH único conforme Lees e Francis (1972), item 2.2.1, com extração de 15 minutos. A análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram realizadas conforme os itens 2.2.3 e 2.2.4, respectivamente.

Tabela 3. Valores codificados e reais das concentrações de soluções extratoras (%) e razão solução:polpa (mL.g⁻¹) utilizado nos ensaios com soluções etanólicas, metanólicas e acetônicas no terceiro delineamento composto central rotacional

Ensaio	Concentração da solução extratora em água (%)	Razão solução:polpa (mL.g ⁻¹)	Concentração da solução extratora em água (%)	Razão solução:polpa (mL.g ⁻¹)
1	-1	-1	14,6	2,5
2	-1	1	14,6	12,4
3	1	-1	85,3	2,5
4	1	1	85,3	12,4
5	0	-1,41	50,0	0,5
6	0	1,41	50,0	14,5
7	-1,41	0	0,0	7,5
8	1,41	0	100,0	7,5
9	0	0	50,0	7,5
10	0	0	50,0	7,5
11	0	0	50,0	7,5
12	0	0	50,0	7,5
13	0	0	50,0	7,5

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaios de otimização da extração de bioativos da polpa de jussara

3.1.1 Primeiro estudo de otimização

No primeiro estudo de otimização, em que foram analisados os compostos bioativos variando a concentração do solvente extrator (41,7% v/v a 98,3% v/v) e a razão solução:polpa (5,7 mL.g⁻¹ a 14,2 mL.g⁻¹), observou-se que não houve diferença entre os diferentes tratamentos, ou seja, a concentração do solvente extrator bem como a razão solução:polpa não influenciaram de forma significativa na extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Assim, nenhum modelo pode ser ajustado, e os valores médios estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores médios de antocianinas, atividade antioxidante e compostos fenólicos obtidos no primeiro DCCR proposto

	Antocianina (mg cianidina-3- glicosídeo.100g ⁻¹)	Antioxidante (μ mol trolox.g ⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)
Etanol	157,17 \pm 22,88	30,50 \pm 3,78	1031,82 \pm 662,57
Acetona	169,06 \pm 12,94	26,59 \pm 2,32	1165,03 \pm 573,11
Metanol	178,37 \pm 14,21	34,91 \pm 4,17	1185,23 \pm 596,64

*Resultados expressos em base úmida

Barros et al. (2015) encontraram o teor de antocianinas de 113,87 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ em polpa de jussara extraída com etanol, valor inferior ao encontrado no presente estudo que foi de 157,17 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹. Borges et al. (2011) encontraram 205,90 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ utilizando metanol como solvente extrator. Esses mesmos autores realizaram extração de antocianinas de jussara empregando água acidificada com HCl 0,1 M, e encontrou teor de antocianina (165,94 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) próximo ao do presente estudo quando empregado acetona como solvente extrator (169,06 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹).

A atividade antioxidante da polpa de jussara foi quantificada por Castro (2012) utilizando metanol como solvente extrator, e foi encontrado 4,32 μ mol trolox/g, valor inferior ao encontrado no presente estudo, em relação a todos os solventes analisados. Abe et al. (2007) encontraram atividade antioxidante entre 2,7 a 19 μ mol trolox.g⁻¹ em diversas cultivares de uvas, empregando metanol como solvente, valores inferiores ao encontrado no presente estudo.

Compostos fenólicos de amora-preta foram extraídos por Vizzotto e Pereira (2011) utilizando acetona como solvente extrator, e encontraram 1022 mg AGE/100g, valor inferior ao encontrado no presente estudo para jussara.

Apesar do metanol e da acetona serem conhecidos como solventes de alto poder extrator, seus usos são restritos devido à alta toxicidade e custo elevado. Com isso há uma ampla utilização de etanol na extração de compostos bioativos, devido ao seu grande poder extrator, baixo custo e baixa toxicidade, sendo o solvente mais utilizado quando a extração ocorre para fins alimentícios.

Assim, observa-se que dentre o intervalo de concentração e de razão solução:polpa analisados no presente estudo, não houve influência significativa no processo de

extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Assim, na extração de bioativos, podem ser utilizadas concentrações de solução extratora e razão solução:polpa tais como quaisquer utilizadas neste primeiro estudo de otimização.

3.1.2 Efeito do tempo na extração de antocianinas de jussara

De acordo com o estudo da cinética, foi observado (Figura 1) que o fator tempo foi não significativo, indicando que o tempo de extração não teve efeito sobre o teor de antocianinas do extrato, ou seja, a extração foi praticamente instantânea. Assim, nenhum modelo pôde ser ajustado. Nesse caso, o “modelo” considerado foi o teor de antocianinas no extrato constante ao longo do tempo de extração, sendo que essa constante é o valor médio do teor de antocianinas, ou seja,

$$Y = \bar{Y} = 279,07 \quad (\text{Eq. 3})$$

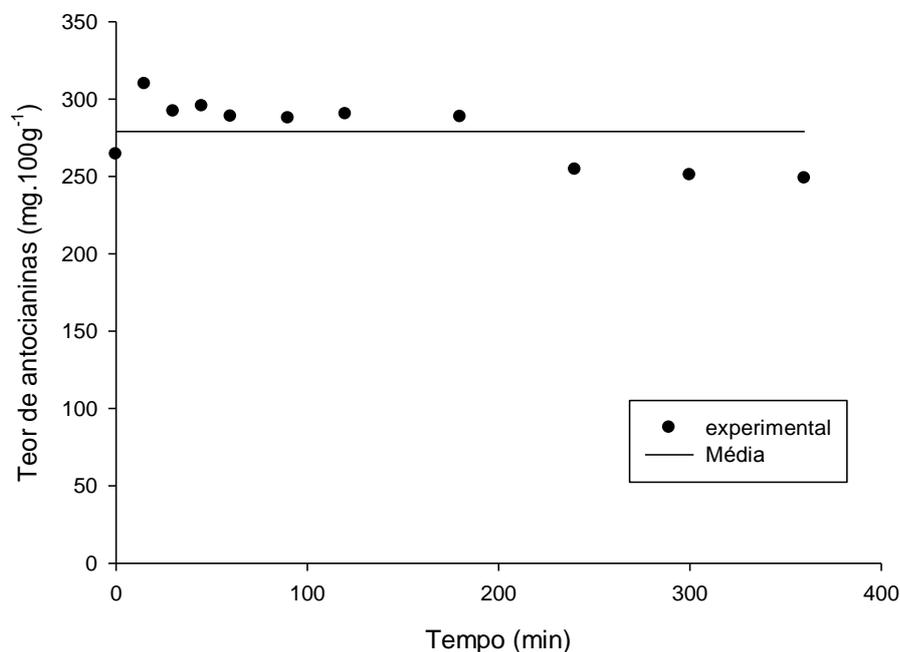


Figura 1. Teor de antocianinas em relação ao tempo de extração.

Uma possível razão para o tempo não ter sido significativo pode ser pelo fato de no presente estudo ter sido utilizada polpa, matéria prima muito suscetível à extração.

Há vários tempos de extração utilizados em diferentes estudos, como tempos curtos da ordem de 10 minutos (GOLMOHAMADI et al., 2013), 15 minutos (BORGES et al., 2011), até tempos longos, da ordem de 24 horas (TEIXEIRA, 2008). Sabendo da influência não significativa deste fator na extração de antocianinas de polpa de jussara, no presente estudo, optou-se por utilizar o tempo de 15 minutos para os estudos de otimização subsequentes (itens 2.3.2 e 2.3.3). Borges et al. (2011), consideraram este tempo suficiente para a extração de compostos bioativos da polpa de jussara.

Assim como no presente estudo, Vizzotto e Pereira (2011) observaram não haver influência do tempo (0, 2, 4, 6 e 24 horas) na extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante de amora-preta.

3.1.3 Efeito do método de quantificação de antocianinas de jussara

Com o estudo da comparação entre os métodos de quantificação de antocianinas pelo pH único e diferencial, foi possível observar que o método do pH único apresentou menor variação no teor de antocianinas comparado ao método do pH diferencial, conforme apresentado na Figura 2.

A diferença entre o teor de antocianinas quantificadas pelas diferentes metodologias pode ter ocorrido devido ao método do pH diferencial apresentar maior número de etapas (diluição e leitura no espectrofotômetro), apresentando maior fonte de erros, o que contribui para maior variabilidade dos dados.

Kruger et al. (2013) também verificaram diferença entre os métodos de quantificação de antocianina extraída de framboesa pelo pH único e diferencial, no qual encontraram maior teor do pigmento pelo método do pH único, concluindo que são necessários ajustes no método do pH diferencial para aplicação no produto estudado.

Em trabalho semelhante executado por Teixeira et al. (2008) foi encontrado diferença significativa entre os métodos para a quantificação de antocianina presente na casca de jaboticaba. No entanto, para as demais fontes antociânicas estudadas (açai, morango, polpa de repolho roxo, casca de berinjela, casca e polpa de sabugueiro, maria preta, romã, pétalas de hibisco, inflorescência de capim gordura) não houve

diferença entre os métodos. Diante disso, os autores recomendaram o uso do método do pH único devido à sua simplicidade.

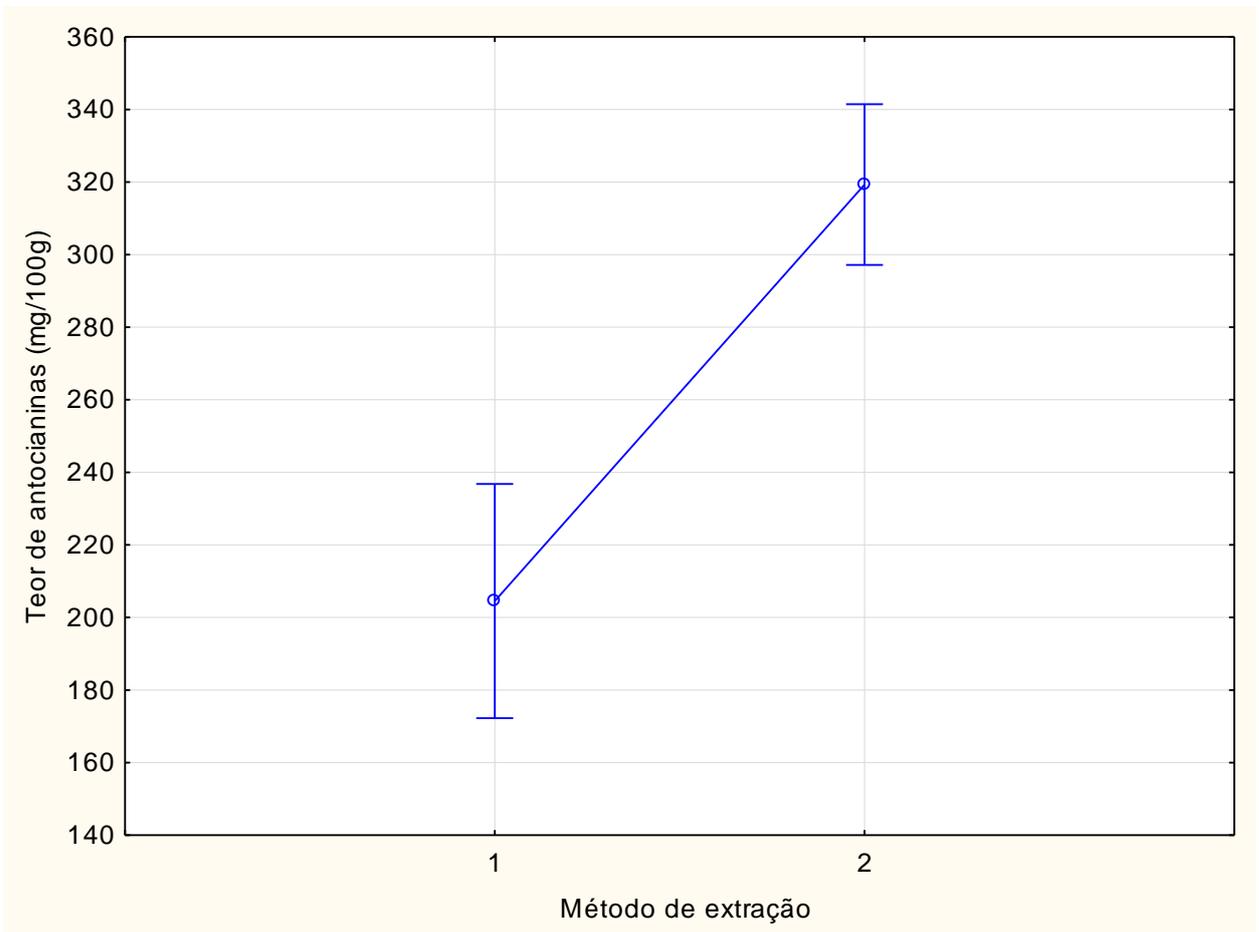


Figura 2. Representação gráfica da comparação entre os métodos do pH diferencial (1) e único (2) na quantificação do teor de antocianina de jussara.

3.1.4 Segundo estudo de otimização

Os ensaios de extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, variando a concentração de soluções extratoras (41,7% v/v a 98,3% v/v) em água e a razão solução:polpa (2 mL.g⁻¹ a 18 mL.g⁻¹) propostos no DCCR do segundo estudo de otimização (item 2.3.2), apresentaram modelos não significativos. Dessa forma, optou-se por apresentar teste de comparação de médias.

Na Tabela 5 estão apresentadas as médias de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídas utilizando etanol como solvente extrator.

Tabela 5. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídos de polpa de jussara utilizando etanol como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas (cia-3-gli.100g⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg AGE.100g⁻¹)	Atividade Antioxidante (μmol trolox.g⁻¹)
1 (50 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	239,39a	1273,90a	20,26a
2 (50 % e 15,6 mL.g ⁻¹)	236,81a	1187,10a	16,34a
3 (90 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	239,70a	1185,30a	18,49a
4 (90% e 15,6 mL.g ⁻¹)	241,13a	1210,10a	16,36a
5 (70% e 2,0 mL.g ⁻¹)	226,22a	1117,30a	18,60a
6 (70% e 18,0 mL.g ⁻¹)	223,22a	1198,70a	14,24a
7 (41,7% e 10,0 mL.g ⁻¹)	249,15a	1488,40a	22,16a
8 (98,3% e 10,0 mL.g ⁻¹)	215,64a	1090,20a	16,64a
9 (70% e 10,0 mL.g ⁻¹)	227,59a	1238,20a	16,78a

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste F ($p > 0,05$).

* Resultados expressos em base úmida

De acordo com a Tabela 5, observa-se que tanto para antocianinas quanto para compostos fenólicos e atividade antioxidante, extraídos utilizando etanol, não foi observada diferença significativa entre as médias dos ensaios. Dessa forma, pode ser utilizada qualquer combinação de concentração de etanol (41,7% a 98,3%) e razão solução polpa (2 mL.g⁻¹ a 18 mL.g⁻¹) analisadas no presente estudo, para a extração de compostos bioativos. Pedro et al. (2016) também não encontraram diferença entre os teores de antocianinas extraídas com diferentes razões sólido:líquido (15 g.mL⁻¹ e 45 g.mL⁻¹) em arroz negro.

Vale ressaltar que essa diferença não significativa seguiu a mesma tendência para antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante demonstrando coerência, já que antocianinas fazem parte do grupo dos compostos fenólicos, que possui propriedade antioxidante.

As médias obtidas para o teor de antocianinas do presente estudo variaram entre 215,64 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ e 249,15 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹. Estes valores são superiores aos encontrados por Borges et al. (2011) (197,56 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), ao extrair antocianinas da polpa de jussara utilizando etanol 70% (v/v) e próximos ao encontrado por Ribeiro et al.

(2011) (235,8 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) quando extraíram antocianinas da mesma matriz.

Os valores médios de compostos fenólicos variaram entre 1090,2 mg AGE.100g⁻¹ a 1488, 4 mg AGE.100g⁻¹ e são superiores a 653,3 mg AGE.100g⁻¹ encontrado por Schultz (2008) analisando compostos fenólicos de polpa de jussara. Esse mesmo autor também analisou a atividade antioxidante, encontrando 14,92 μmol Trolox.g⁻¹, valor próximo ao limite inferior encontrado no presente estudo (14,24 μmol Trolox.g⁻¹ a 22,16 μmol Trolox.g⁻¹).

Na Tabela 6 estão apresentadas as médias de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídas utilizando acetona como solvente extrator.

Tabela 6. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídos de polpa de jussara utilizando acetona como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas (cia-3-gli.100g⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg AGE.100g⁻¹)	Atividade Antioxidante (μmol trolox.g⁻¹)
1 (50 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	235,66ab	1379,60a	18,72a
2 (50 % e 15,6 mL.g ⁻¹)	237,51ab	1380,40a	13,39a
3 (90 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	231,89ab	1209,30a	14,27a
4 (90% e 15,6 mL.g ⁻¹)	227,29ab	1262,80a	13,50a
5 (70% e 2,0 mL.g ⁻¹)	209,20ab	1357,40a	13,69a
6 (70% e 18 mL.g ⁻¹)	243,05a	1315,30a	14,52a
7 (41,7% e 10 mL.g ⁻¹)	232,06ab	1394,60a	15,43a
8 (98,3% e 10 mL.g ⁻¹)	162,07c	948,91a	10,97a
9 (70% e 10 mL.g ⁻¹)	206,32b	1367,20a	15,74a

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

* Resultados expressos em base úmida

De acordo com a Tabela 6, em relação ao teor de antocianinas, o ensaio 6 (concentração de 70% e razão solução:polpa de 18 mL.g⁻¹) apresentou maior média (243,05 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), no entanto não diferiu estatisticamente dos ensaios 1, 2, 3, 4, 5, e 7, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Rockenbach et al. (2008) não encontraram diferença no teor de antocianinas ao utilizarem acetona nas concentrações 30% e 70%. Os ensaios do presente estudo

apresentaram médias entre 209,20 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ e 243,05 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹, valores superiores ao encontrado por Borges et al. (2011) em polpa de jussara, utilizando água acidificada com HCl 0,1M, que foi de 165,94 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹

O ensaio 9 (206,32 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) diferiu do ensaio 6, mas não diferiu dos ensaios 1, 2, 3, 4, 5 e 7. Já o ensaio 8, no qual foi empregada maior concentração de solvente extrator, apresentou menor média (162,07 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), diferindo das demais. Rockenbach et al., (2008) também encontraram menor teor de antocianinas na maior concentração de solvente acetônico avaliado, que foi de 100%.

Assim, dentre os ensaios realizados no presente estudo, para a obtenção do maior teor de antocianinas, podem ser utilizadas as combinações de concentração e razão solução:polpa dos ensaios 1 a 7. Como exemplo, razão solução:polpa 4,3 mL.g⁻¹ e 50% de concentração de solvente (ensaio 1) e 2,0 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa e concentração de 70% (ensaio 3).

Em relação à análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os ensaios utilizando acetona como solução extratora. Dessa forma, poderiam ser utilizadas combinações de concentração de soluções acetônicas e razão solução:polpa tais como qualquer ensaio analisado no estudo. Rockenbach et al. (2008) não verificaram diferença tanto para compostos fenólicos quanto para atividade antioxidante obtidos com acetona 50% e 70% para as variedades de uva *Ancelota* e *Tannat*.

Assim, para a obtenção de maiores teores de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, simultaneamente, recomenda-se utilizar qualquer combinação de concentração e razão solução:polpa dos ensaios 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7 quando utilizando acetona como solvente extrator.

Na Tabela 7 estão apresentadas as médias de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídas utilizando metanol como solvente extrator.

Tabela 7. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídos de polpa de jussara utilizando metanol como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas (cia-3-gli.100g ⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)	Antioxidante (μmol trolox.g ⁻¹)
1 (50 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	271,10a	1796,60a	19,14a
2 (50 % e 15,6 mL.g ⁻¹)	269,93a	2015,50b	16,03ab
3 (90 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	252,59ab	1329,40cd	11,50bc
4 (90% e 15,6 mL.g ⁻¹)	224,99ab	1381,80cd	11,60bc
5 (70% e 2,0 mL.g ⁻¹)	210,2bc	1103,80c	9,81c
6 (70% e 18 mL.g ⁻¹)	232,94ab	1306,00cd	11,28bc
7 (41,7% e 10 mL.g ⁻¹)	223,53bc	1245,60cd	10,96bc
8 (98,3% e 10 mL.g ⁻¹)	209,03bc	1225,70cd	11,85bc
9 (70% e 10 mL.g ⁻¹)	248,34ac	1429,80d	11,98bc

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

* Resultados expressos em base úmida

De acordo com a Tabela 7, o ensaio 1 (50% de concentração e 4,35 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa) apresentou 271,10 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹, maior média de antocianina quando utilizado metanol como solvente extrator. No entanto, esse não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) dos ensaios 2, 3, 4, 6 e 9 pelo teste de Tukey. Borges et al. (2011) encontraram em polpa de jussara teores de antocianinas entre 147,41 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ e 254,57 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ ao utilizar diferentes condições de extração utilizando soluções metanólicas.

O ensaio que apresentou o menor teor de antocianinas foi o 8, quando se utilizou concentração de 98,3% de metanol e 10 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa. No entanto, não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos ensaios 7 e 9, quando foi utilizada concentração de 41,7% de metanol e 10 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa e 70% de metanol e 10 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa, respectivamente. Sant'Anna, Marczak e Tessaro (2013) analisaram antocianina de uva utilizando diferentes concentrações de solvente e observaram baixo teor do pigmento quando a extração era realizada com a maior concentração de solução extratora (95%).

Assim, para a obtenção do maior teor de antocianinas, dentre as amostras analisadas, podem ser utilizadas as combinações de concentração e razão solução:polpa como as dos ensaios 1, 2, 3, 4, 6 e 9.

Quanto ao teor de compostos fenólicos, o ensaio 2 apresentou maior média (2015,5 mg AGE.100g⁻¹), seguido do ensaio 1 que também apresentou média elevada (1796,6 mg AGE.100g⁻¹), ambos diferindo dos demais, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Observa-se que nesses ensaios, embora extraídos utilizando razão solução:polpa distintas, a concentração de solução extratora foi idêntica (50%), mostrando ser uma boa concentração para a extração de compostos fenólicos da polpa de jussara.

Os ensaios 3, 4, 6, 7, 8 e 9 não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$). O ensaio 5 apresentou menor quantidade de compostos fenólicos (1103,8 mg AGE.100g⁻¹), não diferindo dos ensaios 3, 4, 6, 7 e 8 quando utilizado metanol como solvente extrator. Vizzotto e Pereira (2011) obteve 609 mg.100g⁻¹ de compostos fenólicos em amora-preta utilizando soluções metanólicas, valores inferiores aos encontrados para polpa de jussara no presente estudo.

Em relação à atividade antioxidante da polpa de jussara, o ensaio 1 apresentou maior média (19,14 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$), no entanto não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) do ensaio 2, que por sua vez não diferiu dos ensaios 3, 4, 6, 7, 8 e 9 pelo teste de Tukey. O ensaio 5 apresentou menor atividade antioxidante, mas não diferiu dos ensaios 3, 4, 6, 7, 8 e 9. Canuto et al. (2010) analisaram a atividade antioxidante de açaí utilizando solução metanólica e encontraram 10,0 $\mu\text{mol/g}$, valor próximo ao encontrado no presente estudo para a maioria dos ensaios.

Analisando conjuntamente os teores de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante entre ensaios utilizando metanol como solvente extrator, sugere-se o uso da concentração de 50% e maior razão solução:polpa avaliada, 15,6 mL.g⁻¹, equivalendo ao ensaio 2. Muñiz-Márquez et al. (2013) avaliaram a razão sólido:liquido (4, 8 e 12 g.mL⁻¹) na quantificação de compostos fenólicos da folha de loureiro, e verificaram maior quantidade do composto quando utilizado maior razão, assim como no presente estudo. Rockenbach et al. (2008) avaliaram diferentes concentrações de

etanol na quantificação de compostos fenólicos de bagaço de uva da variedade Ancelota, e obteve melhor resultado utilizando concentração de 50%.

Na Tabela 8 estão apresentados os valores médios de antocianinas extraídos utilizando os diferentes solventes.

Tabela 8. Valores médios de antocianinas extraídas de polpa de jussara utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas	Antocianinas	Antocianinas
	(cia-3-gli.100g ⁻¹) etanol	(cia-3-gli.100g ⁻¹) acetona	(cia-3-gli.100g ⁻¹) metanol
1 (50 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	239,39a	235,66a	271,10a
2 (50 % e 15,6 mL.g ⁻¹)	236,81a	237,51a	269,93a
3 (90 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	239,70a	231,89a	252,59a
4 (90% e 15,6 mL.g ⁻¹)	241,13a	227,29a	224,99a
5 (70% e 2,0 mL.g ⁻¹)	226,22a	209,20a	210,20a
6 (70% e 18 mL.g ⁻¹)	223,22a	243,05a	232,94a
7 (41,7% e 10 mL.g ⁻¹)	249,15a	232,06a	223,53a
8 (98,3% e 10 mL.g ⁻¹)	215,64a	162,07b	209,03a
9 (70% e 10 mL.g ⁻¹)	227,59a	206,32b	248,34c

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

* Resultados expressos em base úmida

Com base nos resultados apresentados na Tabela 8 pode ser observado que para os ensaios 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 não houve diferença significativa entre os diferentes solventes utilizados na extração de antocianinas ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey. Bridgers et al. (2010) avaliaram a extração de antocianinas utilizando etanol e metanol como solvente extrator, e assim como no presente estudo, não encontraram diferença em relação ao tipo de solvente utilizado quando a extração foi realizada à 50 °C com razão solução:polpa de 17 (g.100mL⁻¹).

O ensaio 8 apresentou menor média (215,64 cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) quando utilizou etanol como solvente extrator, no entanto, não diferiu estatisticamente de quando se utilizou metanol, sendo esse ensaio de menor média quando empregada acetona como solvente extrator. Já o ensaio 9, apresentou maior média (248,34 cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) quando o metanol foi o solvente extrator das

antocianinas, e menor média (206,32 cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) quando utilizada acetona ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Borges et al. (2011) encontraram maior teor de antocianinas em polpa de jussara quando extraída com metanol (147,31cianidina-3-glicosídeo/100g) em relação ao etanol (32,52 cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), ambas nas mesmas condições.

Considerando o teor de antocianinas obtido nos ensaios para os diferentes solventes e a influência não significativa entre os solventes, conclui-se que podem ser empregados os tratamentos 1, 2, 3, 4 e 6 utilizando qualquer solvente extrator.

Sabe-se que em relação ao etanol, os solventes metanol e a acetona são mais caros e tóxicos. Além disso, o uso desses solventes não são permitidos em produtos alimentícios, assim, sugere-se o uso do etanol na extração de antocianinas da polpa de jussara.

Na Tabela 9 estão apresentados os valores médios de compostos fenólicos extraídos utilizando os diferentes solventes.

Tabela 9. Valores médios de compostos fenólicos de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator

Ensaio	Compostos	Compostos	Compostos
	Fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)	Fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)	Fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)
	Etanol	acetona	metanol
1 (50 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	1273,90a	1379,60ab	1796,60b
2 (50 % e 15,6 mL.g ⁻¹)	1187,10a	1380,40a	2015,50b
3 (90 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	1185,30a	1209,30a	1329,40a
4 (90% e 15,6 mL.g ⁻¹)	1210,10a	1262,80a	1381,80a
5 (70% e 2,0 mL.g ⁻¹)	1117,30a	1357,40a	1103,80a
6 (70% e 18 mL.g ⁻¹)	1198,70a	1315,30a	1306,00a
7 (41,7% e 10 mL.g ⁻¹)	1488,40a	1394,60a	1245,60a
8 (98,3% e 10 mL.g ⁻¹)	1090,20a	948,91a	1225,70a
9 (70% e 10 mL.g ⁻¹)	1238,20a	1367,20a	1429,80a

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05)

* Resultados expressos em base úmida

De acordo com os dados apresentados na Tabela 9, os ensaios 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey entre os diferentes solventes analisados, podendo para esses ensaios, ser empregado qualquer solvente (etanol, acetona ou metanol) na extração de compostos fenólicos. Rockenbach et al. (2008) também não encontraram diferença ao analisar compostos fenólicos utilizando etanol e acetona na concentração de 30% em uva *Anceleta* e *Tannat*.

Já o ensaio 1 não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$) quando se utilizou metanol e acetona como solvente extrator, apresentando maiores médias em relação ao etanol. O ensaio 2 apresentou média superior quando empregou metanol como solvente extrator, e apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os solventes etanol e acetona. Borges et al. (2011) observaram diferença na extração de antocianinas da polpa de jussara com etanol e metanol, ambos acidificados com HCl 1,5 M, sendo que o metanol extraiu maior teor do pigmento.

Considerando que o ensaio 2 apresentou maior média em relação aos demais ensaios quando utilizando metanol (Tabela 8), e apresentou diferença estatística ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey em relação aos diferentes solventes utilizados (Tabela 9), conclui-se que a fim de se obter maior extração de compostos fenólicos, devem ser empregadas as condições de extração de concentração de 50% de metanol e razão solução:polpa 15,65 mL.g⁻¹.

Na Tabela 10 estão apresentados os valores médios de atividade antioxidante extraídos utilizando os diferentes solventes.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 10, os ensaios 1, 2, 3, 4, 6 e 8 não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) quanto ao solvente utilizado na quantificação da atividade antioxidante da polpa de jussara. Rockenbach et al. (2008) também não encontraram diferença significativa na atividade antioxidante em bagaço de uva *Anceleta* ao utilizar etanol e acetona nas concentrações de 50 e 70 %.

Tabela 10. Valores médios de atividade antioxidante de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator

Ensaio	Antioxidante	Antioxidante	Antioxidante
	($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$) etanol	($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$) acetona	($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$) metanol
1 (50 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	20,26a	18,72a	19,14a
2 (50 % e 15,6 mL.g ⁻¹)	16,34a	13,39a	16,03a
3 (90 % e 4,3 mL.g ⁻¹)	18,49a	14,27a	11,50a
4 (90% e 15,6 mL.g ⁻¹)	16,36a	13,50a	11,60a
5 (70% e 2,0 mL.g ⁻¹)	18,60a	13,69ab	9,81b
6 (70% e 18 mL.g ⁻¹)	14,24a	14,52a	11,28a
7 (41,7% e 10 mL.g ⁻¹)	22,16a	15,43ab	10,96b
8 (98,3% e 10 mL.g ⁻¹)	16,64a	10,97a	11,85a
9 (70% e 10 mL.g ⁻¹)	16,78a	15,74ab	11,98b

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

* Resultados expressos em base úmida

Os ensaios 5, 7 e 9 apresentaram maiores médias de atividade antioxidante quando utilizando etanol como solvente extrator (18,6; 22,16 e 16,78 $\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$, respectivamente), no entanto não diferiram do ensaio utilizando acetona, que por sua vez, não diferiram do ensaio em que foi empregado metanol.

Em relação à atividade antioxidante houve diferença estatística entre os ensaios apenas quando foi utilizado metanol como solvente extrator (Tabela 7), sendo os ensaios 1 e 2 os de maiores médias, não diferindo entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Sabendo que esses ensaios não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) em relação ao solvente utilizado (etanol, acetona e metanol) conforme apresentado na Tabela 10, conclui-se que pode ser empregada qualquer solução extratora utilizando a concentração de 50%, com razão solução:polpa de 4,35 mL.g⁻¹ ou 15,65 mL.g⁻¹ a fim de obter maior atividade antioxidante na polpa de jussara.

Assim, para maior obtenção de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante simultaneamente, para o segundo estudo de otimização, sugere-se o

emprego do tratamento 2, de concentração 50% e razão solução:polpa de 15,65 mL.g⁻¹. Quanto ao solvente extrator, em relação a antocianinas e atividade antioxidante, pode ser empregado qualquer solvente analisado no presente estudo. No entanto, em relação aos compostos fenólicos o melhor solvente a ser utilizado é o metanol.

Considerando a alta toxicidade do metanol, bem como seu custo elevado e a sua proibição para uso em alimentos, conclui-se que o etanol deve ser empregado sempre que possível.

3.1.5 Terceiro estudo de otimização

Os ensaios de extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, variando a concentração de solvente (0% a 100%) e a razão solução:polpa (0,5 mL.g⁻¹ a 14,5 mL.g⁻¹) propostos no DCCR do terceiro estudo de otimização (item 2.3.3), apresentaram modelos não significativos. Dessa forma, optou-se por apresentar teste de comparação de médias.

Na Tabela a seguir estão apresentadas as médias de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídas utilizando como solvente extrator o etanol (Tabela 11).

De acordo com a Tabela 11, o ensaio 4 (concentração 85,36% e razão solução:polpa 12,4 mL.g⁻¹) apresentou maior teor de antocianinas (260,41mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), no entanto não diferiu dos ensaios 1, 2, 3 e 6 ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Os ensaios 2, 3, 7 e 8 não diferiram entre si, assim como os ensaios 7, 8 e 9. Já o ensaio 5 apresentou menor média (123,12 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) diferindo dos demais ensaios ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Quintana (2009), não verificou diferença entre o teor de antocianinas em sabugo de milho roxo extraída utilizando diferentes concentrações de etanol (20%, 40% e 60%).

Tabela 11. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando etanol como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas (mg de cia-3- gli.100g⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg AGE.100g⁻¹)	Atividade Antioxidante (μmol trolox.g⁻¹)
1 (14,6% e 2,5 mL.g ⁻¹)	209,33ab	815,98 ^a	38,07ab
2 (14,6% e 12,4 mL.g ⁻¹)	238,84ac	1019,50 ^a	38,90ab
3 (85,3% e 2,5 mL.g ⁻¹)	239,46ac	945,14 ^a	41,91a
4 (85,3% e 12,4 mL.g ⁻¹)	260,41a	1052,00a	40,53ab
5 (50% e 0,5 mL.g ⁻¹)	123,12d	723,74 ^a	26,22b
6 (50% e 14,5 mL.g ⁻¹)	216,39a	1054,50 ^a	38,16ab
7 (0% e 7,5 mL.g ⁻¹)	205,83bc	792,87 ^a	34,11ab
8 (100% e 7,5 mL.g ⁻¹)	205,85bc	768,39 ^a	29,88ab
9 (50% e 7,5 mL.g ⁻¹)	180,77b	1003,70 ^a	36,46ab

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

* Resultados expressos em base úmida

Assim, para obtenção do maior teor do pigmento, podem ser utilizadas combinações de concentração e razão solução:polpa como quaisquer utilizadas nos ensaios 1, 2, 3, 4 e 6. Estes ensaios apresentaram teores de antocianinas entre 209,33 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ e 260,41 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹, valores superiores a 153,12 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ ao encontrado por Barros et al. (2015) para a mesma matriz.

Quanto aos compostos fenólicos, não houve diferença significativa entre os ensaios ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, que apresentaram média variando entre 723,74 mg AGE.100g⁻¹ e 1054,5 mg AGE.100g⁻¹. Dessa forma, dentre os ensaios apresentados na Tabela 11, qualquer combinação de concentração e razão solução:polpa avaliada poderia ser utilizada para maior obtenção de compostos fenólicos da polpa de jussara utilizando etanol como solvente extrator. Vieira et al. (2013), assim como no presente estudo, não verificaram diferença entre compostos fenólicos de jussara quando extraídos com diferentes concentrações de etanol.

A maior média de atividade antioxidante foi encontrada no ensaio 3 (85,36% de concentração e 2,55 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa), 41,91 μ mol trolox.g⁻¹, porém não diferindo dos demais ensaios, exceto do ensaio 5 (concentração 50% e razão

solução:polpa 0,50 mL.g⁻¹) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Nota-se que, assim como teor de antocianinas, o ensaio 5 apresentou menor média de atividade antioxidante (26,22 µmol trolox.g⁻¹). Este fato pode ter ocorrido pois esse é o ensaio com menor razão solução:polpa, podendo ter gerado um menor gradiente de migração de compostos que possivelmente contribuem para atividade antioxidante.

Borges et al. (2011) avaliaram a atividade antioxidante de jussara empregando diferentes razões solução:polpa (10, 50 e 100 g.mL⁻¹) e encontraram menor atividade antioxidante no ensaio de menor razão solução:polpa.

Com isso, visando a obtenção de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante simultaneamente, sugere-se a utilização de concentração e razão solução:polpa tal como as empregadas nos ensaios 1, 2, 3, 4 e 6, quando soluções etanólicas são usadas na extração.

Na Tabela a seguir estão apresentadas as médias de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídas utilizando acetona como solvente extrator (Tabela 12).

Tabela 12. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando acetona como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas (mg de cia-3- gli.100g⁻¹)	Compostos Fenólicos (mg AGE.100g⁻¹)	Atividade Antioxidante (µmol trolox.g⁻¹)
1 (14,6% e 2,5 mL.g ⁻¹)	197,21ab	873,48abc	40,85a
2 (14,6% e 12,4 mL.g ⁻¹)	253,91d	1057,90bc	39,82ab
3 (85,3% e 2,5 mL.g ⁻¹)	236,79d	955,12bc	40,69a
4 (85,3% e 12,4 mL.g ⁻¹)	233,44d	1121,70c	40,48a
5 (50 % e 0,5 mL.g ⁻¹)	124,09e	588,45a	25,40b
6 (50% e 14,5 mL.g ⁻¹)	205,25a	1072,00c	39,53ab
7 (0% e 7,5 mL.g ⁻¹)	173,00bc	786,11ab	31,93ab
8 (100% e 7,5 mL.g ⁻¹)	176,60bc	664,77ab	29,10ab
9 (50 e 7,5 mL.g ⁻¹)	170,32c	1141,00c	40,79a

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

* Resultados expressos em base úmida

Quanto aos compostos bioativos extraídos com acetona (Tabela 12), os ensaios 2, 3 e 4 apresentaram as maiores médias de antocianinas diferindo dos demais ensaios ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. O ensaio 6 também não diferenciou do ensaio 1, que por sua vez, não diferenciou dos ensaios 7 e 8 ($p > 0,05$). Os ensaios 7 e 8 também não diferiram do 9, e o ensaio 5 apresentou menor média (124,09 mg de cianidina-3-glicosídeo. $100g^{-1}$). O menor teor de antocianinas obtido no ensaio 5, pode estar relacionado à baixa razão solução:polpa utilizada na extração. Bridgers et al. (2010) avaliaram o teor de antocianina em polpa de batata doce empregando razão solução:polpa de 3,3% e 17% e verificaram maior teor do pigmento quando utilizando maior razão.

Assim, para a obtenção do maior teor de antocianinas extraídas utilizando acetona como solvente extrator, sugere-se o uso de concentrações e razões solução:polpa tal como as utilizadas nos ensaios 2, 3 e 4.

A maior média de compostos fenólicos (1141 mg AGE. $100g^{-1}$) foi obtida utilizando concentração de 50% e razão solução:polpa 7,5 mL. g^{-1} (ensaio 9), mas não diferiu dos ensaios 1, 2, 3, 4 e 6, ao nível de 5% pelo teste de Tukey. O ensaio 5 apresentou menor média (588,45 mg AGE. $100g^{-1}$) no entanto, não diferiu dos ensaios 1, 7 e 8. Os ensaios 1, 2, 3, 7 e 8 também não diferiram entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Soares et al. (2008) avaliaram o conteúdo de fenólicos de extratos obtidos de uvas Niagara e Isabel empregando soluções acetônicas em diferentes concentrações (25%, 50%, 75% e 100%), e não verificaram diferença entre os compostos fenólicos obtidos nas concentrações (25%, 50% e 100%) de solvente para as duas variedades de uva. No entanto a concentração de 75% apresentou maior obtenção de fenólicos tanto para Niágara quanto para Isabel.

Dessa forma, para a obtenção de compostos fenólicos utilizando soluções acetônicas sugere-se o uso de qualquer combinação analisada no presente estudo, exceto do ensaio 5, 7 e 8.

A atividade antioxidante da polpa de jussara apresentou maior média (40,85 $\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$) no ensaio 1, no entanto, não diferiu dos demais, exceto do ensaio 5, que apresentou menor média (25,4 $\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$). No entanto, não houve diferença

significativa entre o ensaio 5 e os ensaios 2, 6, 7 e 8 pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Soares et al. (2008) avaliaram a atividade antioxidante em uvas Niágara e Isabel utilizando acetona (75%) e encontraram valores de 23,17 $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e 17,10 $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente, inferiores aos valores do presente estudo.

Para a obtenção de maior atividade antioxidante empregando acetona como solvente extrator, podem ser utilizadas quaisquer combinações de razão solução:polpa e concentração proposta no presente estudo, exceto as dos ensaios 2 e 5.

Analisando em conjunto a extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpa de jussara utilizando soluções acetônicas sugere-se a utilização de concentração e razão solução:polpa tal como as utilizadas nos ensaios 2 (concentração de 14,64% e razão solução:polpa de 12,45 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$), 3 (concentração de 85,36 % e razão solução:polpa de 2,55 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$) e 4 (concentração de 85,36% e razão solução:polpa de 12,45 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$). No entanto, considerando ainda o custo da extração, sugere-se a utilização do ensaio 3.

Na Tabela 13 estão apresentados os valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraídos utilizando metanol como solvente extrator.

Tabela 13. Valores médios de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante extraído de polpa de jussara utilizando metanol como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas (mg de cia-3- gli.100g⁻¹)	Compostos fenólicos (mg AGE.100g⁻¹)	Atividade Antioxidante ($\mu\text{mol trolox} \cdot \text{g}^{-1}$)
1 (14,6% e 2,5 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	217,14ab	759,50a	34,45ab
2 (14,6% e 12,4 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	217,22ab	917,98ab	37,60a
3 (85,3% e 2,5 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	217,02ab	819,87a	35,29ab
4 (85,3% e 12,4 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	257,10c	1066,90b	46,108a
5 (50% e 0,5 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	108,47d	486,02c	22,67b
6 (50% e 14,5 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	218,04ab	1021,00b	38,86a
7 (0% e 7,5 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	180,97d	1068,90b	41,96a
8 (100% e 7,5 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	197,13ad	958,69ab	37,27a
9 (50% e 7,5 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	225,05b	1028,60b	45,02a

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

* Resultados expressos em base úmida

De acordo com a Tabela 13, o ensaio 4 apresentou maior teor de antocianinas (257,1 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), diferindo de todos os outros ensaios ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Os ensaios 1, 2, 3 e 6 não diferiram entre si, e ambos não diferiram entre os ensaios 8 e 9. O ensaio 5, extraído com metanol 50% e razão solução:polpa 0,5 mL.g⁻¹, apresentou menor média (108,04 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹), mas não diferiu dos ensaios 7 e 8. Assim, para maior obtenção de antocianinas extraídas de soluções metanólicas, pode ser utilizada a concentração de 85,36 % e a razão solução:polpa de 12,45 mL.g⁻¹ (ensaio 4).

Rufino et al. (2010) verificaram o teor de antocianinas em polpa de jussara utilizando metanol como solvente extrator, e obtiveram 192 mg de cianidina-3-glicosídeo/100g, valor inferior ao encontrado na maioria dos ensaios do presente estudo.

A maior quantidade de compostos fenólicos obtidos no presente estudo utilizando soluções metanólicas, foi no ensaio 7, que no entanto, não diferiu dos ensaios 2, 4, 6, 8 e 9 ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey. Os ensaios 1, 2, 3 e 8 também não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Já o ensaio 5 apresentou menor média de compostos fenólicos da polpa de jussara quando utilizando metanol como solvente extrator, diferindo dos demais ensaios ($p < 0,05$). Dessa forma, dentre as combinações de concentração e razão solução:polpa analisadas no presente estudo, sugere-se a adoção dos ensaios 2, 4, 6, 7, 8 e 9.

Borges et al. (2011) avaliaram o conteúdo fenólico de polpa de jussara utilizando metanol como solvente extrator e razão solução:polpa de 10 g/mL, 50 g/mL e 100 g/mL. Ao empregar razão solução:polpa de 10 g/mL, foi encontrado 353,31 mg AGE / 100g, valor inferior a todos os obtidos no presente estudo. Já quando foi aplicada razão de 50 g/mL, obteve conteúdo fenólico de 497,78 mg AGE.100g⁻¹, valor próximo ao encontrado no ensaio 5. E quando foi empregada razão de 100 g/mL, obteve-se maior conteúdo fenólico, 657,90 mg AGE.100g⁻¹, valor inferior ao encontrado na maioria dos ensaios do presente estudo.

Em relação a atividade antioxidante da polpa de jussara utilizando metanol como solvente extrator, o ensaio 4 apresentou maior média, não diferindo dos demais ensaios ($p > 0,05$), exceto do ensaio 5, que apresentou menor média. No entanto, esse

não diferiu dos ensaios 1 e 3 pelo teste de Tukey. Com isso, para obtenção de maior atividade antioxidante da polpa de jussara utilizando soluções metanólicas, pode ser empregado qualquer combinação de concentração e razão solução:polpa dentre as avaliadas no presente estudo, exceto a combinação do ensaio 5.

Considerando os resultados obtidos tanto para antocianinas quanto para compostos fenólicos e atividade antioxidante utilizando metanol como solvente extrator, sugere-se a utilização de concentração de 85,36% e razão solução:polpa de 12,45 mL.g⁻¹, a fim de se obter maiores teores desses compostos em uma mesma extração.

Na Tabela 14 estão apresentados os valores médios do teor de antocianinas utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator.

Tabela 14. Valores médios de antocianinas de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator

Ensaio	Antocianinas	Antocianinas	Antocianinas
	(mg de cia-3-gli.100g ⁻¹) etanol	(mg de cia-3-gli.100g ⁻¹) Acetona	(mg de cia-3-gli.100g ⁻¹) metanol
1 (14,6% e 2,5 mL.g ⁻¹)	209,33a	197,21a	217,14a
2 (14,6% e 12,4 mL.g ⁻¹)	238,84a	253,91a	217,22a
3 (85,3% e 2,5 mL.g ⁻¹)	239,46a	236,79a	217,02a
4 (85,3% e 12,4 mL.g ⁻¹)	260,41a	233,44a	257,10a
5 (50 % e 0,5 mL.g ⁻¹)	123,12a	124,09a	108,47a
6 (50% e 14,5 mL.g ⁻¹)	216,39a	205,25a	218,04a
7 (0% e 7,5 mL.g ⁻¹)	205,83a	173,10a	180,97a
8 (100% e 7,5 mL.g ⁻¹)	205,85a	176,60a	197,13a
9 (50 e 7,5 mL.g ⁻¹)	180,77a	170,32a	225,05b

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

* Resultados expressos em base úmida

De acordo com a Tabela 14, apenas o ensaio 9 apresentou diferença estatística quanto a utilização dos diferentes solventes extratores (metanol, acetona e metanol) em relação ao teor de antocianinas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Dessa forma, para todos os ensaios, exceto o 9, qualquer solvente poderia ser

utilizado na extração de antocianinas. Já para a extração nas condições avaliadas no ensaio 9 (concentração de 50% e razão de 7,5 mL.g⁻¹) o metanol apresentou maior média em relação aos solventes etanol e acetona, sendo assim mais indicado para esse ensaio.

Para o teor de antocianinas e atividade antioxidante, Quintana (2009) não encontrou diferença na extração utilizando etanol e acetona em milho roxo, assim como no presente estudo, para os ensaios de 1 a 8. No estudo de Bridgers et al. (2010), foi avaliado o teor de antocianinas em batata doce utilizando etanol e metanol como solvente extrator, e foi observado maior teor do pigmento empregando metanol, assim como o ensaio 9 do presente estudo.

Assim, observando os resultados de extração de antocianinas obtidos no presente estudo, e considerando os resultados das Tabelas 12, 13 e 14, conclui-se que o melhor ensaio para extração de antocianinas a ser utilizado é o 4 (85,36% de concentração e 12,4 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa), podendo ser realizado com qualquer solvente analisado.

Na Tabela 15 estão apresentados os valores médios do teor de compostos fenólicos utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 15 pode ser observado que não houve diferença significativa entre os diferentes solventes analisados para todos os ensaios do presente estudo quanto aos compostos fenólicos, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Dessa forma, poderia ser empregado qualquer solvente (etanol, acetona e metanol) na extração desses compostos de polpa de jussara.

Bridgers et al. (2010), não constataram diferença significativa entre os solventes etanol e metanol na extração de compostos fenólicos de batata doce a 50 °C. No entanto, no estudo de Falcão et al. (2007) foi analisada a diferença entre compostos fenólicos extraídos com etanol e acetona para uva Refosco, sendo observada maior extração utilizando acetona.

Tabela 15. Valores médios de compostos fenólicos de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator

Ensaio	Compostos	Compostos	Compostos
	fenólicos (mg AGE.00g ⁻¹)	fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)	fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)
	Etanol	Acetona	Metanol
1 (14,6% e 2,5 mL.g ⁻¹)	815,98a	873,48 ^a	759,50a
2 (14,6% e 12,4 mL.g ⁻¹)	1019,50a	1057,90a	917,98a
3 (85,3% e 2,5 mL.g ⁻¹)	945,14a	955,12a	819,87a
4 (85,3% e 12,4 mL.g ⁻¹)	1052,00a	1121,70a	1066,90a
5 (50 % e 0,5 mL.g ⁻¹)	723,74a	588,45a	486,02a
6 (50% e 14,5 mL.g ⁻¹)	1054,5a	1072,00a	1021,00a
7 (0% e 7,5 mL.g ⁻¹)	792,87a	786,11a	1068,90a
8 (100% e 7,5 mL.g ⁻¹)	768,39a	664,77a	958,69a
9 (50 e 7,5 mL.g ⁻¹)	1003,70a	1141,00a	1028,60a

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05)

* Resultados expressos em base úmida

Considerando os dados das Tabelas 11, 12 e 13, conjuntamente com a Tabela 15, sugere-se o uso de concentrações e razões solução:polpa tais como dos ensaios 2, 4, 6 e 9 utilizando qualquer solvente analisado para a extração de compostos fenólicos.

Na Tabela 16 estão apresentados os valores médios do teor de atividade antioxidante utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator.

De acordo com a Tabela 16, os ensaios analisados no presente estudo não apresentaram diferença significativa quanto ao solvente utilizado na quantificação da atividade antioxidante pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Assim, para qualquer ensaio avaliado, pode ser empregado qualquer solvente na quantificação de atividade antioxidante da polpa de jussara.

Tabela 16. Valores médios de atividade antioxidante de polpa de jussara quantificados utilizando etanol, acetona e metanol como solvente extrator

Ensaio	Antioxidante	Antioxidante	Antioxidante
	($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$) etanol	($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$) acetona	($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$) metanol
1 (14,6% e 2,5 mL.g ⁻¹)	38,07a	40,85a	34,45a
2 (14,6% e 12,4 mL.g ⁻¹)	38,90a	39,82a	37,60a
3 (85,3% e 2,5 mL.g ⁻¹)	41,91a	40,69a	35,29a
4 (85,3% e 12,4 mL.g ⁻¹)	40,53a	40,48a	46,108a
5 (50 % e 0,5 mL.g ⁻¹)	26,22a	25,4a	22,67a
6 (50% e 14,5 mL.g ⁻¹)	38,16a	39,53a	38,86a
7 (0% e 7,5 mL.g ⁻¹)	34,11a	31,93a	41,96a
8 (100% e 7,5 mL.g ⁻¹)	29,88a	29,10a	37,27a
9 (50 e 7,5 mL.g ⁻¹)	36,46a	40,79a	45,02a

Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

* Resultados expressos em base úmida

De acordo com os dados das Tabelas 11, 12, 13 e 16, para atividade antioxidante no presente estudo, sugere-se a utilização de concentração de solvente e razão solução:polpa de qualquer ensaio, exceto do ensaio 5, podendo ser empregado qualquer solvente (etanol, acetona ou metanol). Assim como no presente estudo, Falcão et al. (2007) também não encontraram diferença significativa entre os solventes etanol e acetona na atividade antioxidante de uvas das cultivares Isabel e Refosco.

De acordo com os resultados obtidos no terceiro estudo de otimização conclui-se que a fim de obter maior teor de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante em uma mesma extração, o melhor ensaio a ser utilizado é o 4 (concentração de solvente 85,36 % e a razão solução:polpa de 12,4 mL.g⁻¹) podendo ser utilizado etanol, acetona ou metanol como solvente extrator. No entanto, considerando a toxicidade e o custo dos solventes acetona e metanol, bem como sua proibição para uso em produtos alimentícios, sugere-se a utilização de soluções etanólicas para a extração de compostos bioativos e atividade antioxidante de polpa de jussara.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nos estudos de otimização, conclui-se que a extração de antocianinas da polpa de jussara pode ser realizada instantaneamente e utilizando o método do pH único, de forma a se obter antocianinas de maneira mais rápida e com menor variação do método. Por fim, observou-se que a melhor condição global analisada para a obtenção de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, foi empregando solução etanólica a 50% e 15,6 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa, a fim de produzir extratos com menor custo e toxicidade, já que etanol pode ser incorporado em sistemas alimentícios. No entanto, para fins analíticos, pode ser utilizado metanol ou acetona para a extração de compostos bioativos e antioxidante.

5. REFERÊNCIAS

- ABE, L.T.; MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.
- BARROS, E. C. M.; COSTA, G. N. S.; RIBEIRO, L. O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. S. S. Efeitos da pasteurização sobre características físico-químicas, microbiológicas e teor de antocianinas da polpa de juçará (*Euterpe edulis Martius*). **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 8, n. 1, p. 1-32, 2015.
- BORGES, G. S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; ZAMBIAZI, R. C.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, 2011.
- BORGES, S. C. G.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. **Food Research International journal**, v. 44, n. 3, p. 708-715, 2011.
- BRIDGERS, E. N.; CHINN, M. S.; TRUONG, V. DEN. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 613–620, 2010.
- CANUTO, G. A. B.; OLIVEIRA, D. R.; CONCEIÇÃO, L. S. M.; FARAH, J. P. S.; TAVARES, M. F. M. Development and validation of a liquid chromatography method for anthocyanins in strawberry (*Fragaria* spp.) and complementary studies on stability, kinetics and antioxidant power. **Food Chemistry**, v. 192, p. 566–574, 2016.

CASTRO, R. W. **Caracterização de açaí obtido de frutos de *Euterpe edulis* Martius taratdos termicamente**. 2012. 56 f. (Graduação em Engenharia de Alimentos). Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2012.

CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 6, p. 767–778, 2007.

CHEOK, C. Y.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y.; TALIB, R.; LAW, C. L. Optimization of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) extractions from mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) hull using ultrasonic treatments. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 1-7, 2013.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea*, M .)**. 2003. 183 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; FALCÃO, L. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 637-642. 2007.

FRANCIS, FJ. Analysis of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. New York, Academic Press, p. 181-207, 1982.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 217–225, 2003.

GOLMOHAMADI, A.; MOLLER, G.; POWERS, J.; NINDO, C. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p.1316-1323, 2013.

INADA, K. O. P.; OLIVEIRA, A. A.; REVORÊDO, T. B.; MARTINS, A. B. N.; LACERDA, E. C. Q.; FREIRE, A. S.; BRAZ, B. F.; SANTELLI, R. E.; TORRES, A. G.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. C. **Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions**, Journal of Functional Foods, v. 17, p. 422–433. 2015.

KAPADIA, G. J.; BALASUBRAMANIAN, V.; TOKUDA, H.; IWASHIMA, A.; HOYOKU, Inhibition of 12-0-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced epstein- barr virus early antigen activation os natural colorantes. **Cancer lettes**, v. 115, n. 2, p. 173-178, 1997.

KRÜGER, E. S.; SOUZA, V. R. D.; SANTOS, J. L.; COUTO, A. F.; FIORAVANTES, J. B.; MOREIRA, A. S. Análise de Antocianinas em pré-mixes de framboesa por pH diferencial e pH único. **XXII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas**, 2013.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. **Hortiscience**, v.7, n.1, p.83-84,1972.

MUÑIZ-MÁRQUEZ, D. B.; MARTÍNEZ-ÁVILA, G. C.; WONG-PAZ, J. E.; BELMARES-CERDA, R.; Rodríguez-Herrera, R.; AGUIAR, C. N. . Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1149–1154, 2013.

OLIVEIRA, A. P. D. S. et al. CONSUMO DE CORANTES ARTIFICIAIS EM BALAS E CHICLETES POR CRIANÇAS DE SEIS A NOVE ANOS. **Revista Analytica**, n. 44, p. 79–85, 2010.

PEDRO, A. C.; GRANATO, D.; ROSSO, N. D. Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. **Food Chemistry**, v. 191, p. 12–20, 2016.

QUINTANA, R. S. C. **Extração e caracterização do pigmento do sabugo de milho roxo (zea mays l.) e sua aplicação**. 2009. 171 f. (Mestrado em Ciências de Alimentos) Pós-Graduação em Ciências de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2009.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RIBEIRO, L. DE O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. DE S. S. Avaliação da Composição Centesimal , Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçuí (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica TECEN**, v. 4, p. 5–16, 2011.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.;KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008.

ROGRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos & Otimização de Processos**. Campinas: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 3ª ed. 2014.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURACALIXTO, F., MANCINI FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996–1002, 2010.

SANT'ANNA, V.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Kinetic Modeling of Anthocyanin Extraction from Grape Marc. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 12, 2013.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açais de Euterpe edulis Martius e Euterpe oleracea Martius submetidos a tratamentos para sua conservação**. 2008. 52 f. (Trabalho de Conclusão de Curso de Agronomia), Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2008.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status.

Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, v. 53, p. 10–23, 2012.

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

SOARES, M.; WELTER, I.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, I.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira De Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 059-064, 2008.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de Métodos para Quantificação de Antocianinas. **Ceres**. v. 55, p.297-304, 2008.

VIEIRA, G. S.; CAVALCANTE, R. N.; MEIRELES, A. A.; HUBINGER, M. D. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 2, p. 196–204, 2013.

VIROT, M.; TOMÃO, V.; LE BOURVELLEC, C.; RENARD, C. M. C. G.; CHMAT, F. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, n. 6, p. 1066–1074, 2010.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Amora-preta (*Rubus* sp.): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1209–1214, 2011.

CAPÍTULO III

ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE JUSSARA (*Euterpe edulis* Martius) ASSISTIDA POR ULTRASSOM: EFEITO DA POTÊNCIA E TEMPERATURA

RESUMO

As antocianinas são compostos fenólicos, com elevada atividade antioxidante, e podem ser utilizadas como corante natural em alimentos. Dentre as diversas fontes de antocianinas, destaca-se o jussara, fruto rico em compostos bioativos, porém, pouco estudado em sistemas alimentícios. Para a obtenção desse pigmento é necessário realizar a extração, que pode ocorrer de diversas formas, dentre elas, utilizando o ultrassom. Diversos autores apontam o ultrassom como uma boa opção para melhorar a extração de antocianina, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi verificar a influência da temperatura (25, 32, 39, 46 e 54 °C) e da potência ultrassônica (0, 360 e 900 W) na extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante da polpa de jussara. Foi observado que para a obtenção de antocianinas e compostos fenólicos a extração deve ocorrer a 25 °C, não sendo necessária a utilização de potências ultrassônicas. Já visando a obtenção de maior atividade antioxidante, deve ser utilizada a potência de 360 W associada à temperatura de 25 °C.

Palavras-chave: antocianinas, compostos fenólicos, atividade antioxidante, ultrassom.

ABSTRACT

Anthocyanins are phenolic compounds with high antioxidant activity and can be used as natural food colorants. Among the various sources of anthocyanins, stands out the jussara, a fruit rich in bioactive compounds, however little studied in food systems. To obtain this pigment is necessary to carry out the extraction, which can occur in several ways, among them by using ultrasound. Several authors point out the ultrasound as a good option to improve the extraction of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity. Thus, the aim of this study was to investigate the influence of temperature (25, 32, 39, 46 and 54 ° C) and ultrasonic power (0, 360 and 900 W) in the extraction of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity from the jussara pulp. It was observed that for obtaining anthocyanins and phenolic compounds the extraction should take place at 25 °C, not requiring the use of ultrasonic power. Aiming to obtain higher antioxidant activity, should be used 360 W of power associated with the temperature of 25 °C.

Keywords: anthocyanins, phenolic compounds, antioxidant activity, ultrasound

1. INTRODUÇÃO

As antocianinas são pigmentos naturais encontrados facilmente na natureza, conferindo cores entre vermelho e azul a flores e frutos. Tais compostos tem atraído muita atenção, pois além do alto poder corante, as antocianinas possuem propriedades benéficas à saúde, por se tratarem de compostos fenólicos com elevada atividade antioxidante, estando relacionadas com a redução do risco de doenças cardiovasculares, câncer, dentre outras (KUSANO; FERRARI; FERRAZ, 2002; WANG; STONES, 2008). Sabe-se que os corantes sintéticos, apesar de serem mais estáveis, causam danos à saúde, como alergias, asma, hiperatividade em crianças (PRADO; GODOY, 2007). Assim, as antocianinas surgem como uma alternativa de substituição aos corantes sintéticos, de forma a fornecer alimentos mais saudáveis. Dentre as diversas fontes de antocianinas, o jussara vem sendo muito pesquisado devido ao teor desses compostos.

A extração de antocianinas pode ocorrer de diferentes formas, como extração convencional, que utiliza apenas os solventes, extração por microondas, dióxido de carbono supercrítico e por ultrassom (IVANOVIC, 2014). Ultrassom é uma onda mecânica que atua em uma faixa de frequência acima de 20 kHz até 1GHz, e se propaga em meios sólidos, líquidos e gasosos. O ultrassom tem sido utilizado para extração de diversos compostos orgânicos, a partir de várias matrizes, incluindo compostos fenólicos (CARRERA, 2012).

A técnica convencional está associada com longos tempos de extração, grandes quantidades de solventes e baixa eficiência de extração. Assim, o ultrassom é apontado com uma boa alternativa para melhorar a extração de antocianinas, baseado no aumento das taxas de transferências de massa e possível ruptura da parede celular devido ao processo de cavitação, levando a maior extração (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012).

É considerada uma técnica promissora devido a sua simplicidade, baixo custo dos equipamentos, rendimento da extração e maior eficiência de extração quanto ao tempo e ao consumo de solvente (IVANOVIC, 2014). Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da temperatura e da potência ultrassônica na extração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante da polpa de jussara.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Departamento Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre.

2.1 Materia-prima

A polpa de jussara (*Euterpe edulis* Martius) foi adquirida de agricultores da região do Caparaó, Sul do Estado do Espírito Santo. As polpas foram estocadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, até o momento dos ensaios de extração.

2.2 Análises quantitativas

2.2.1 Antocianinas totais pelo método pH único

As antocianinas totais foram extraídas de acordo com a metodologia descrita por Francis (1982) com solução etanólica 50% (v/v), acidificada a pH 2,0 com ácido clorídrico, em um banho ultrassônico, ao abrigo da luz. O pigmento foi quantificado pelo método do pH único conforme Lees e Francis (1972), com auxílio de um espectrofotômetro (BEL photonics; SP 2000 UV). Para o cálculo do teor de antocianinas, foi realizada diluição do extrato original, e o teor total de antocianina foi expresso em cianidina-3-glicosídeo (Massa molar de $490,0\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Para a leitura foi utilizado o coeficiente de absorvidade molar de $26900\text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$, em comprimento de onda de 510 nm.

2.2.3 Conteúdo fenólico total

O índice de polifenóis totais (IPT) foi determinado pelo ensaio do reagente Folin-Ciocalteu, com base em metodologia adaptada de Singleton e Rossi (1965). Foi diluído 0,6 mL do extrato da matéria prima em 3,0 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada (1:10 v/v); após 3 minutos de repouso ao abrigo da luz, foram adicionados 2,4 mL de solução saturada de Na_2CO_3 (7,5 %; m/v). A absorbância foi determinada a 760 nm em espectrofotômetro, após 1 hora de repouso em ausência de luz. O IPT foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico ($0\text{-}200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e os resultados expressos em ácido gálico equivalente ($\text{mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$).

2.2.4 Atividade antioxidante – ensaio do radical ABTS

A atividade anti-radical livre foi realizada para a polpa de jussara utilizando-se o método de ensaio do radical ABTS. Para a formação do radical ABTS^{•+}, uma solução aquosa de ABTS 7 mM foi adicionada a uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM. Esta mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 16 horas. Após este tempo a absorbância foi corrigida para 0,70 ($\pm 0,02$) a 734 nm com adição de etanol 80% (RE et al., 1999) em espectrofotômetro. A 3,5 mL da solução radical ABTS^{•+} foram adicionados 0,5 mL de cada extrato da matéria-prima, e realizada leitura em espectrofotômetro após 6 minutos de reação. Foi utilizado o Trolox como padrão e os resultados foram expressos em equivalente de Trolox ($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$).

2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas

Para avaliar o efeito do uso do ultrassom na extração das antocianinas de jussara foi utilizado como solvente extrator o etanol. A concentração da solução extratora selecionada foi de 50% (v/v) e a razão solução:polpa utilizada no presente estudo foi de 15,6 mL.g⁻¹. Estes parâmetros foram selecionados com base em estudo prévio (Capítulo II, item 3.1.5), de condições ótimas de extração das antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

No presente estudo, foram avaliadas a potência ultrassônica (0 W - controle, 360 W e 900 W) em conjunto com a temperatura de extração (25, 32, 39, 46 e 53 °C) (Tabela 1), durante 15 minutos, utilizando o banho ultrassônico (UPL-10AE), com frequência de 25 kHz, de acordo com a metodologia adaptada de Borges et al. (2011).

Tabela 1. Variáveis e níveis estudados na extração de antocianinas de jussara assistida por ultrassom

Variável	Níveis				
Potencia (W)	0		360		900
Temperatura (°C)	25	32	39	46	53

O experimento foi conduzido em esquema fatorial, com três repetições e em duplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e análise de regressão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise do teor de antocianinas obtido na extração utilizando o ultrassom foi submetido à análise de variância (ANOVA) e está apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Análise de variância para teor de antocianinas

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	p
Potência	2	16766	8383	22,133*	0,000001
Temperatura	4	3456	864	2,281 ^{ns}	0,083752
PxT	8	8251	1031	2,723*	0,021998
Resíduo	30	11363	379		
Total	44	39837			

*: Significativo ($p < 0,05$); ^{ns}: Não significativo ($p > 0,05$).

De acordo com a Tabela 2, observa-se que a potência ultrassônica apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) na extração de antocianinas, já a temperatura não exerceu influência nesse processo, de acordo com o teste F. Como a interação entre potência ultrassônica e temperatura empregada foi significativa, faz-se necessário realizar o desdobramento de um fator dentro do outro, uma vez que os fatores não atuam isoladamente. A Tabela 3 mostra o teor de antocianinas obtido para diferentes temperaturas nas distintas potências ultrassônicas analisadas.

Tabela 3. Teor de antocianinas para diferentes temperaturas e potências ultrassônicas.

	25 °C	32 °C	39 °C	46 °C	53 °C
0 W	269,57aA	228,05abA	190,92bA	216,07abA	230,62abA
360 W	270,07aA	265,64aA	281,04aB	263,92aA	282,64aA
900 W	262,39aA	245,37aA	259,65aB	270,26aA	265,47aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, dentro de uma mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$), e médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro de uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

*Resultados expressos em base úmida

Como o fator temperatura é quantitativo, o recomendado é analisá-lo por meio de regressão. Contudo, como não foi possível ajustar nenhum modelo (testou-se polinômios de primeiro, segundo e terceiro grau), optou-se pelo teste de comparações múltiplas de Tukey para comparar as diferentes temperaturas testadas. De acordo com a Tabela 3 e a Figura 1, quando não houve aplicação de ondas ultrassônicas, não foi observada diferença significativa entre as temperaturas de 25 °C, 32 °C, 46 °C e 53 °C. Já na temperatura de 39°C foi observado menor teor do

pigmento. No entanto, esse não diferiu das temperaturas 32 °C, 46 °C e 53 °C ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

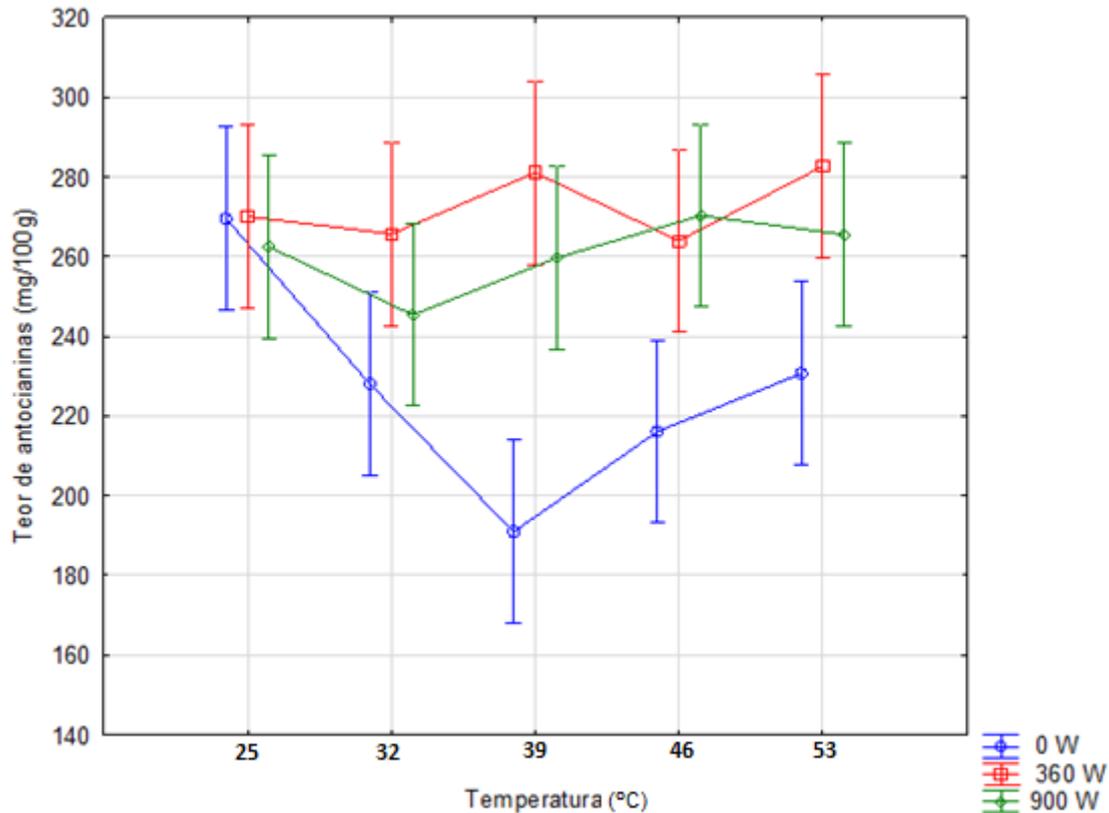


Figura 1. Teor de antocianinas em relação à temperatura utilizada nas respectivas potências ultrassônicas.

Dessa forma, na extração de antocianinas empregando potência de 0 W, ou seja, sem a propagação de ondas ultrassônicas, sugere-se as temperaturas de 25, 32, 46 ou 53 °C, a fim de obter maior teor do pigmento.

Em relação às potências de 360 W e 900 W, não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre nenhuma temperatura analisada no presente estudo, ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Assim, empregando ondas ultrassônicas na extração de antocianinas, seja na potência de 360 W ou 900 W, pode ser utilizada qualquer temperatura dentre as analisadas no presente estudo.

Vieira et al. (2013) avaliaram a influência da temperatura (25, 35, 45 e 55 °C) na extração de bioativos de jussara utilizando ultrassom, e assim como no presente estudo, não verificou diferença significativa entre as diferentes temperaturas em relação ao teor de antocianinas e compostos fenólicos. No entanto, Carreira et al.

(2012) também aplicaram diferentes temperaturas (0, 10, 20, 50 e 75 °C) na extração de antocianinas e compostos fenólicos de uvas, e verificaram diferença entre as temperaturas, sendo encontrados maiores teores de antocianinas nas temperaturas de 10 e 20 °C e de compostos fenólicos nas de 0, 10 e 20°C.

Quanto às diferentes potências ultrassônicas aplicadas na extração de antocianinas, observa-se que para as temperaturas de 25, 32, 46 e 53 °C, pode ser empregada qualquer potência analisada no presente estudo, uma vez que essas não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey. No entanto, quando foi empregada a temperatura de 39 °C, observou-se maior teor do pigmento quando utilizadas ondas ultrassônicas, seja na potência de 360 W ou de 900 W, uma vez que essas diferiram da potência de 0 W, mas não diferiram entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Chen et al. (2007) avaliaram a influência de diferentes potências ultrassônicas (232, 300, 400, 500 e 568 W) na extração de antocianinas de framboesa, e verificaram diferença significativa, obtendo maior teor do pigmento quando utilizando potência de 400 W.

Dessa forma, conclui-se que para maior extração de antocianinas da polpa de jussara utilizando ultrassom, potências de 360 W e 900 W, combinadas com quaisquer temperaturas analisadas no presente estudo podem ser utilizadas. A extração sem ondas ultrassônicas (potência de 0 W) também pode ser empregada com qualquer temperatura, exceto 39 °C. Considerando ainda o custo do equipamento, bem como a minimização do custo do processo, sugere-se a realização da extração sem ondas ultrassônicas à temperatura de 25 °C.

Na Tabela 4 está apresentado o resultado da análise de variância (ANOVA) para compostos fenólicos da polpa de jussara utilizando o ultrassom.

Tabela 4. Análise de variância para compostos fenólicos

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Potência	2	41665	20833	10,47*	0,000356
Temperatura	4	16575	4144	2,08 ^{ns}	0,107969
PxT	8	14959	1870	0,94 ^{ns}	0,499463
Resíduo	30	59702	1990		
Total	44	132901			

*: Significativo ($p < 0,05$); ^{ns}: Não significativo ($p > 0,05$).

De acordo com a Tabela 4, a potência ultrassônica aplicada foi significativa quanto à análise de compostos fenólicos ($p < 0,05$) pelo teste F. Já a temperatura do banho ultrassônico, bem como a interação entre os fatores potência e temperatura, não foram significativos, indicando que apenas a potência teve influência quanto aos compostos fenólicos da polpa de jussara. Na Tabela 5 estão apresentadas as médias do teor de compostos fenólicos para diferentes potências ultrassônicas utilizadas no processo de extração.

Tabela 5. Teor médio de compostos fenólicos, em relação às diferentes potências ultrassônicas

Potência (W)	0	360	900
Compostos fenólicos (mg AGE.100g ⁻¹)	1131,9a	1091,6b	1057,5b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

*Resultados expressos em base úmida

De acordo com a Tabela 5, quando não se utilizou ondas ultrassônicas maior quantidade de compostos fenólicos foi extraída, em comparação com o uso das potências de 360 W e 900 W.

Esse resultado contraria o encontrado por Tomão et al. (2010), que compararam a extração de compostos fenólicos de bagaço de maçã pelo método convencional e com emprego do ultrassom, e verificaram aumento de 20% de compostos fenólicos quando utilizado o ultrassom.

Assim, visando a maior obtenção de compostos fenólicos de polpa de jussara, sugere-se a extração sem o uso de ondas ultrassônicas em quaisquer temperaturas analisadas no presente estudo. No entanto, considerando o custo de energia para elevação da temperatura, sugere-se a extração à temperatura de 25 °C.

O resultado da análise de variância (ANOVA) para a atividade antioxidante de jussara obtido na extração utilizando o ultrassom está apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Análise de variância para atividade antioxidante

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P
Potência	2	298,52	149,26	7,212*	0,002771
Temperatura	4	113,80	28,45	1,375 ^{ns}	0,266259
PxT	8	199,43	24,93	1,204 ^{ns}	0,329717
Resíduo	30	620,91	20,70		
Total	44	1232,66			

*: Significativo ($p < 0,05$); ^{ns}: Não significativo ($p > 0,05$).

Em relação a atividade antioxidante, observa-se na Tabela 6, que assim como para compostos fenólicos, apenas a potência ultrassônica foi significativa ($p < 0,05$) pelo teste F. A Tabela 7 apresenta as médias de atividade antioxidante obtidas quando empregadas diferentes potências ultrassônicas.

Tabela 7. Atividade antioxidante, em relação às diferentes potências ultrassônicas.

Potência (W)	0	360	900
Atividade antioxidante ($\mu\text{mol trolox.g}^{-1}$)	25,46a	30,58b	31,21b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

*Resultados expressos em base úmida

De acordo com a Tabela 7, observa-se que quando utilizadas ondas ultrassônicas foi obtida maior atividade antioxidante, sendo que as potências de 360 W e 900 W não diferiram entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey. Já a extração sem o uso de ondas ultrassônicas apresentou menor atividade antioxidante. Assim, para maior atividade antioxidante sugere-se a utilização de ondas ultrassônicas combinadas com quaisquer temperaturas avaliadas no presente estudo. No entanto, considerando o custo operacional, recomenda-se a temperatura de 25 °C.

Nota-se que a atividade antioxidante foi favorecida ao se utilizar ondas ultrassônicas e compostos fenólicos foi favorecido sem o uso de ondas ultrassônicas. Uma possível razão para esse fato é que o jussara pode conter outros compostos que contribuam para sua atividade antioxidante sem ser compostos fenólicos. Além disso, o emprego de elevadas potências ultrassônicas proporciona maior fenômeno de cavitação, que consiste na formação, crescimento e colapso de microbolhas de uma fase líquida, que pode ter favorecido a obtenção de compostos com atividade antioxidante, como a vitamina C.

Vieira et al. (2013), quando avaliaram o efeito da extração com e sem emprego do ultrassom na atividade antioxidante em polpa de jussara, verificaram menor atividade antioxidante quando empregado o ultrassom, contrariando os resultados do presente estudo. De acordo com os autores, a polpa de jussara contém pequenas partículas originadas durante o processo de despulpamento, com amplas áreas superficiais que proporcionam excelentes contatos destas com o solvente extrator, independente do processo de extração.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que na otimização do processo de extração de bioativos de polpa de jussara não é necessário o uso de potências ultrassônicas, e a extração deve ser realizada à temperatura de 25 °C, reduzindo os custos operacionais.

Para a obtenção de extratos com elevada atividade antioxidante, recomenda-se a utilização de potências de 360 W associada à temperatura de 25 °C, dessa forma, também reduzindo os custos operacionais.

5. REFERÊNCIAS

CARRERA, C. et al. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, p. 100–104, 2012.

CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 6, p. 767–778, 2007.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas New dietetic compounds with anticarcinogenic properties. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 375–382, 2002.

FRANCIS, FJ. Analysis of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. New York, Academic Press, p. 181-207, 1982.

IVANOVIC, J.; TADIC, V.; DIMITRIJEVIC, S.; STAMENIC, M.; PETROVIC, S.; ZIZOVIC, I. Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar “Cacanska Bestrna”. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 274–281, 2014.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 268–273, 2007.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 53, p. 10–23, 2012.

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

VIEIRA, G. S.; CAVALCANTE, R. N.; MEIRELES, A. A.; HUBINGER, M. D. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 2, p. 196–204, 2013.

VIROT, M.; TOMAO, V.; LE BOURVELLEC, C.; RENARD, C. M.C.G.; CHEMAT, F. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, n. 6, p. 1066-1074. 2010.

WANG, W. D.; STONES, G.D. Mini-review – Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Letters**, v. 269, p. 281–290, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que o jussara é rico em compostos fenólicos, atividade antioxidante e antocianinas, sendo a cianidina-3-rutinosídeo a antocianina majoritária. Quando extraído da maneira tradicional, deve ser utilizada a concentração de 50% de solução etanólica e 15,6 mL.g⁻¹ de razão solução:polpa, de forma a se obter maior quantidade de compostos bioativos, com menor custo e toxicidade dos extratos, podendo ser adicionado em alimentos.

A utilização do ultrassom para a extração de antocianinas e compostos fenólicos não foi viável, uma vez que obtiveram-se bons resultados sem a utilização de ondas ultrassônicas. Além disso, a temperatura do banho ultrassônico não apresentou efeito significativo na extração dos compostos. Assim, sugere-se que a realização da extração ocorra sem o emprego das ondas ultrassônicas, à temperatura de 25°C, de forma a reduzir o custo operacional.

Sugere-se a realização de novos estudos de otimização de extração de bioativos e atividade antioxidante, de forma a elucidar as melhores condições de obtenção desses compostos, e avaliar o efeito do ultrassom como tecnologia emergente na extração de compostos bioativos de frutas em geral.