

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

GABRIELA MOTA NOGUEIRA

**AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DA
POLPA DE BURITI (*Mauritia flexuosa*) POR METODOLOGIA DE
SUPERFÍCIE DE RESPOSTA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2017

GABRIELA MOTA NOGUEIRA

**AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DA
POLPA DE BURITI (*Mauritia flexuosa*) POR METODOLOGIA DE
SUPERFÍCIE DE RESPOSTA**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Eliane Sloboda Rigobello

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Vieira da Silva

CAMPO MOURÃO

2017



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DA POLPA DE BURITI (*Mauritia flexuosa*) POR METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

POR

GABRIELA MOTA NOGUEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 29 de Novembro de 2017 às 15:50h como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^a. Dra. Eliane Sloboda Rigobello
Orientadora

Prof. Dr. Marcos Vieira da Silva
Co-orientador

Prof. Dr. Fábio Henrique Poliseli Scopel
Membro da banca

Prof^a. Dra. Ailey Aparecida Coelho Tanamati
Membro da banca

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Denise pelo amor, paciência e dedicação comigo desde sempre. Você foi imprescindível ao me dar suporte nos momentos difíceis e vibrar comigo a cada conquista como se fosse sua.

Ao meu companheiro Felipe que com muito amor trouxe ideias positivas e encorajadoras para que eu me mantivesse firme independente da situação. Você foi e sempre será uma inspiração para mim.

À minha orientadora Prof^a. Dra. Eliane Sloboda Rigobello que com toda paciência, eficiência e disposição me auxiliou ao longo desse trabalho com ensinamentos e sugestões.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Marcos Vieira da Silva pelo companheirismo, confiança e ensinamentos. O seu suporte foi imprescindível para o meu aprendizado e desenvolvimento.

Aos professores Dr. Marcia Perdoncini e Dr. Evandro Bona pelo suporte e auxílio fornecidos nesse trabalho.

À minha amiga Carla que sempre me contagiou com sua alegria e me inspirou com seu otimismo e perseverança. Você se tornou um porto seguro para mim, obrigada por todos os momentos que passamos juntas.

Às minhas amigas Giovana, Letícia R., Letícia V., Iara, Amarilis e Ana pela amizade, companheirismo e afeto durante esses anos de faculdade. Aos meus amigos Victor, Rodrigo, Carolina, Gabriele A., Kadu, Luis, Dandara e Patrícia que mesmo à distância transmitiram boas energias para eu seguir em frente.

À banca examinadora, professores Dr. Fábio Henrique Poliseli Scopel e Ailey Aparecida Coelho Tanamati pelas correções e sugestões.

À todos os professores do departamento de Engenharia de Alimentos e dos demais departamentos que me ensinaram, encorajaram e inspiraram. À coordenação de Alimentos que foi fundamental durante os processos pelos quais passei durante a graduação. Aos servidores do Campus que sempre foram muito prestativos e amáveis ao me atender.

Por fim agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento até aqui.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei;
não fosse por elas eu não teria saído do lugar”

Chico Xavier

NOGUEIRA, G. M. **Avaliação da extração de compostos antioxidantes da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*) por metodologia de superfície de resposta**. 2017. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2017.

RESUMO

Em função da maior procura por alimentos que previnem o aparecimento de doenças devido à ação de antioxidantes, torna-se necessária a realização de estudos que visam à extração desses compostos para que eles se tornem cada vez mais disponíveis. O buriti é uma fruta rica em compostos antioxidantes e, portanto, é uma fonte interessante de estudo nessa área. Por essas razões foi proposta a extração de compostos antioxidantes da polpa de buriti e a investigação das melhores condições de extração para o fornecimento de respostas maximizadas. Para isso foi feito o delineamento composto central rotacional (DCCR) utilizando a percentagem de polpa/solução extratora, percentagem de etanol/água e temperatura como variáveis independentes. Os extratos obtidos foram avaliados quanto a fenólicos, flavonoides e carotenoides totais e capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP. Os teores de compostos bioativos variaram de 104,64 a 270,61 mg EAG 100 g⁻¹ para fenólicos totais, de 17,74 a 60,46 mg EC 100 g⁻¹ para flavonoides totais e de 1,30 a 3,92 mg kg⁻¹ para carotenoides totais. A capacidade antioxidante dos extratos avaliados pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP variou de 1,23 a 3,47 μmol ET g⁻¹, 6,34 a 15,86 μmol ET g⁻¹ e 4,74 a 11,95 μmol ET g⁻¹, respectivamente. A modelagem dos dados gerou modelos matemáticos estatisticamente significativos e gráficos de contorno da metodologia de superfície de resposta por meio dos quais se obteve as melhores condições de extração. Os carotenoides totais foram melhores extraídos com 20% de polpa de buriti, percentagens intermediárias de etanol e temperaturas próximas a 70°C. Todos os outros compostos foram melhores extraídos com 5% de polpa de buriti, percentagens intermediárias de etanol e temperaturas próximas a 30°C. Verificou-se a presença de atividade antioxidante indicando eficiência das extrações e confirmando o potencial da fruta. Os resultados da análise das regiões ótimas para a extração de compostos antioxidantes da polpa de buriti poderão ser utilizados em trabalho futuro sobre otimização da extração da polpa.

Palavras-chave: buriti, extração, polpa, antioxidantes, delineamento experimental.

NOGUEIRA, G. M. **Evaluation of antioxidant compounds extraction of buriti pulp (*Mauritia flexuosa*) by response surface methodology.** 2017. 76 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2017.

ABSTRACT

Because of the greater demand for foods that prevent the appearance of diseases due to the antioxidant action, it is necessary to carry out studies in order to extract these compounds to become more available. Buriti is a fruit rich in antioxidant compounds and therefore it is an interesting source of study in this area. For these reasons it was proposed the extraction of antioxidant compounds from the buriti pulp and the investigation of the best extraction conditions to provide maximized responses. For this, a rotational central composite design (RCCD) was runned, using percentage of pulp / extractive solution, percentage of ethanol / water and temperature as independent variables. The extracts were evaluated for phenolics, flavonoids and total carotenoids and antioxidant capacity by DPPH, ABTS and FRAP methods. The content of bioactive compounds ranged from 104.64 to 270.61 mg EAG 100g⁻¹ for total phenolics, from 17.74 to 60.46 mg EC 100g⁻¹ for total flavonoids and from 1.30 to 3.92 mg kg⁻¹ for total carotenoids. The antioxidant capacity of the extracts evaluated by the DPPH, ABTS and FRAP methods ranged from 1.23 to 3.47 μmol ET g⁻¹, 6.34 to 15.86 μmol ET g⁻¹ and 4.74 to 11.95 μmol ET g⁻¹, respectively. The modeling applied generated statistically significant mathematical models and response surface methodology produced contour plots which indicated the best extraction conditions. Total carotenoids were best extracted with 20% buriti pulp, intermediate percentages of ethanol and temperatures near 70°C. All other compounds were best extracted with 5% buriti pulp, intermediate percentages of ethanol and temperatures near 30°C. It was verified the presence of antioxidant activity indicating the efficiency of the extractions and confirming the potential of the fruit. The responses of the optimal regions analysis for the antioxidant compounds extraction of the buriti pulp can be used in future work on optimization of pulp extraction.

Key words: buriti, extraction, pulp, antioxidants, experimental design.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes ângulos da palmeira do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>).....	16
Figura 2. Frutos do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>).....	16
Figura 3. Composição física do fruto do buriti em corte longitudinal.	17
Figura 4. Fenol como base do grupo dos compostos fenólicos.....	20
Figura 5. Estrutura básica de um flavonoide.	22
Figura 6. Estruturas químicas de alguns tipos de carotenoides.	23
Figura 7. DCC com três fatores mostrando os pontos fatoriais (F), axiais (A) e central (C).	28
Figura 8. Polpa de buriti homogeneizada e embalada a vácuo.....	31
Figura 9. Extrato de polpa de buriti.	34
Figura 10. Curva padrão de ácido gálico para a concentração de fenólicos totais dos extratos da polpa de buriti.	35
Figura 11. Curva padrão de catequina para a concentração de flavonoides dos extratos da polpa de buriti.....	36
Figura 12. Curva padrão de trolox para a concentração de antioxidantes dos extratos da polpa de buriti avaliados pelo método DPPH.	38
Figura 13. Curva padrão de trolox para a concentração de antioxidantes dos extratos da polpa de buriti avaliados pelo método ABTS.....	39
Figura 14. Curva padrão de trolox para a concentração de antioxidantes dos extratos da polpa de buriti avaliados pelo método FRAP.....	40
Figura 15. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e de percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de fenólicos totais.	51
Figura 16. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de fenólicos totais.	51
Figura 17. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e percentagem de etanol com efeito sobre o teor de fenólicos totais.	52
Figura 18. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e de percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de flavonoides.	53
Figura 19. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e de percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de flavonoides.	53
Figura 20. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e de percentagem de etanol com efeito sobre o teor de flavonoides.	54
Figura 21. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e percentagem de polpa de buriti como efeito sobre o teor de carotenoides.	55
Figura 22. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de polpa de buriti como efeito sobre o teor de carotenoides.....	55
Figura 23. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de etanol como efeito sobre o teor de carotenoides.	56
Figura 24. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método DPPH.....	57

Figura 25. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método DPPH.	57
Figura 26. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de etanol como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método DPPH.	58
Figura 27. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método ABTS.	59
Figura 28. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método ABTS.	59
Figura 29. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de etanol como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método ABTS.	60
Figura 30. Gráfico de contorno da relação entre percentagem de etanol e de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade antioxidante pelo método FRAP.	61
Figura 31. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade antioxidante pelo método FRAP.	61
Figura 32. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de etanol como efeito sobre a capacidade antioxidante pelo método FRAP.	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química da polpa de buriti.....	18
Tabela 2. Principais agentes de defesa antioxidante.	19
Tabela 3. Classificação dos fenólicos totais.	21
Tabela 4. Delineamento composto central rotacional (DCCR) com três variáveis independentes: X1 (polpa/solução extratora), X2 (etanol/água) e X3 (temperatura).....	33
Tabela 5. Condições experimentais e respostas dos teores de compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos da polpa de buriti.	43
Tabela 6. Concentrações limites de detecção e quantificação das curvas padrão dos métodos analíticos empregados nos extratos da polpa de buriti.	41
Tabela 7. Modelos matemáticos ajustados de previsão do teor dos compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos da polpa de buriti.	44
Tabela 8. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de fenólicos totais.....	48
Tabela 9. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de flavonoides.	48
Tabela 10. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de carotenoides.....	48
Tabela 11. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de antioxidantes pelo método DPPH.....	49
Tabela 12. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de antioxidantes pelo método ABTS.	49
Tabela 13. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de antioxidantes pelo método FRAP.	49
Tabela 14. Análise de regressão dos modelos matemáticos ajustados de previsão do teor dos compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos da polpa de buriti.	50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 BURITI (<i>Mauritia flexuosa</i>)	16
3.2 ANTIOXIDANTES	19
3.2.1 FENÓLICOS TOTAIS	20
3.2.2 FLAVONOIDES	21
3.2.3 CAROTENOIDES	22
3.3 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ANTIOXIDANTES	24
3.4 MÉTODOS PARA ANÁLISE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS E ANTIOXIDANTES	25
3.4.1 MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU PARA FENÓLICOS TOTAIS.....	25
3.4.2 MÉTODO DO CLORETO DE ALUMÍNIO PARA FLAVONOIDES	25
3.4.3 MÉTODO DE CAROTENOIDES	26
3.4.4 MÉTODO DPPH	26
3.4.5 MÉTODO ABTS.....	26
3.4.6 MÉTODO FRAP	27
3.5 LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO	27
3.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	27
3.7 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	29
3.8 MODELAGEM MATEMÁTICA	30
4. MÉTODOS E PROCEDIMENTOS	31
4.1 SOLVENTES E REAGENTES	31
4.2 PREPARO DA AMOSTRA	31
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	32
4.4 MÉTODO DE EXTRAÇÃO	33
4.5 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	34
4.5.1 FENÓLICOS TOTAIS	35
4.5.2 FLAVONOIDES	36
4.5.3 CAROTENOIDES	36
4.5.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	37

4.6	MODELAGEM E ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
5.1	LIMITE DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO	41
5.2	RESPOSTA DOS TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	41
5.2	MODELOS MATEMÁTICOS AJUSTADOS.....	44
5.2.1	EFEITOS DA PORCENTAGEM DE POLPA.....	44
5.2.2	EFEITOS DA PORCENTAGEM DE ETANOL	45
5.2.3	EFEITOS DA TEMPERATURA	46
5.2.4	EFEITOS DAS INTERAÇÕES.....	47
5.3	ANÁLISES DE VARIÂNCIA E DE REGRESSÃO.....	48
5.4	GRÁFICOS DE CONTORNO.....	50
5.4.1	CONDIÇÕES PARA FENÓLICOS TOTAIS.....	50
5.4.2	CONDIÇÕES PARA FLAVONOIDES	52
5.4.3	CONDIÇÕES PARA CAROTENOIDES.....	54
5.4.4	CONDIÇÕES PARA ANTIOXIDANTES (MÉTODO DPPH).....	56
5.4.5	CONDIÇÕES PARA ANTIOXIDANTES (MÉTODO ABTS)	58
5.4.6	CONDIÇÕES PARA ANTIOXIDANTES (MÉTODO FRAP).....	60
5.5	ANÁLISE DAS REGIÕES ÓTIMAS.....	62
5.	CONCLUSÃO.....	63
6.	REFERÊNCIAS	64

1. INTRODUÇÃO

A expectativa de vida da população mundial aumentou significativamente no decorrer dos anos, e um dos fatores responsáveis por isso foi a maior procura por alimentos que de alguma forma previnem o aparecimento de doenças (MACHADO; SOARES, 2014).

Algumas substâncias presentes nos alimentos podem agir em espécies reativas ou estimular o sistema endógeno de defesa do organismo evitando o estresse oxidativo, associado à idade e ao desenvolvimento de doenças crônicas, inflamatórias e degenerativas (CÂNDIDO et al., 2015). Esse efeito protetivo tem sido atribuído à presença de compostos com atividade antioxidante, como vitaminas, minerais, compostos fenólicos e carotenoides na composição química de verduras, legumes e frutas (KOOLEN et al., 2013).

A região amazônica possui condições climáticas adequadas para cultivo de um vasto número de palmeiras nativas e exóticas ainda não exploradas e que são de interesse para a indústria alimentícia (DELGADO et al., 2007). Dentre estas, o buritizeiro é a palmeira que produz o buriti (*Mauritia flexuosa*), fruta muito consumida nas regiões Norte e Nordeste, conhecida por possuir propriedades associadas ao combate do estresse oxidativo e, portanto, usada na prevenção de diversas doenças (ROMERO et al., 2015).

Para o conhecimento das substâncias ativas de frutas, um dos procedimentos mais comuns é a preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos ativos. Na extração vários fatores devem ser considerados tais como razão sólido-líquido, tipo e fração de solvente e temperatura (MIGLIATO et al., 2011).

Para o estudo do efeito desses fatores na busca de respostas em uma condição ótima, é possível utilizar o delineamento composto central (DCC). Esse delineamento pertence a uma família de delineamentos eficientes, os quais requerem poucos ensaios para sua realização, número menor de tratamentos em relação aos fatoriais completos e uso sequencial, de forma a caminhar no sentido da otimização do sistema (MATEUS et al., 2001).

A metodologia de superfície de respostas (MSR) é uma ferramenta eficiente para otimizar as propriedades de alimentos processados que se baseia na variação simultânea de fatores, previamente selecionados por sua influência nas propriedades do processo. Utilizando técnicas matemáticas e estatísticas, os resultados experimentais indicam uma combinação de níveis dos fatores dentro de uma região ótima (GRIZOTTO et al., 2005).

Considerando tais informações, neste trabalho foi proposto produzir extratos hidroetanólicos a partir da polpa de buriti e investigar as melhores condições de extração sob as quais os extratos apresentariam respostas máximas de teor de compostos bioativos e capacidade antioxidante.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter as melhores condições de extração por meio da metodologia de superfície de resposta para a obtenção de extrato de polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*) com o maior teor de compostos bioativos e capacidade antioxidante.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair antioxidantes da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*) e avaliar a eficiência da extração por meio do delineamento composto central rotacional;
- Avaliar os efeitos da razão sólido/líquido (polpa/solução extratora), da razão líquido/líquido (etanol/solução extratora) e da temperatura na extração de antioxidantes da polpa de buriti;
- Analisar os extratos hidroetanólicos obtidos quanto a fenólicos totais, carotenoides totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP;
- Utilizar o delineamento composto central rotacional para aplicação dos dados na metodologia de superfície de resposta;
- Utilizar a metodologia de superfície de resposta para descrever a extração dos compostos antioxidantes em região ótima.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BURITI (*Mauritia flexuosa*)

O buriti (*Mauritia flexuosa*), pertencente à família botânica Palmae ou Arecaceae, é uma planta de origem amazônica que pode ser encontrada nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e em parte do Sudoeste do Brasil (SANTOS, 2011). Esta planta é típica de regiões de vereda, cercada por rios ou beirando ilhas (DARNET et al., 2011).

A palmeira do buriti, apresentada na Figura 1, pode alcançar 40 m de altura, possui folhas que atingem até 3 m de comprimento e produz cachos com flores alaranjadas. Dessas flores, surgem os frutos (Figura 2), que possuem forma elíptica, casca composta por escamas triangulares castanho-avermelhadas e polpa amarelo alaranjada (SAMPAIO; CARAZZA, 2012).



Figura 1. Diferentes ângulos da palmeira do buriti (*Mauritia flexuosa*).

Fonte: CUNHA, 2011; LOPEZ, 2016; PASINI; OLIVEIRA, 2015.



Figura 2. Frutos do buriti (*Mauritia flexuosa*).

Fonte: CUNHA, 2011; SAMPAIO; CARAZZA, 2012.

Como apresentado na Figura 3, o buriti é composto fisicamente por semente, parte fibrosa, polpa e casca (MELO et al., 2011).

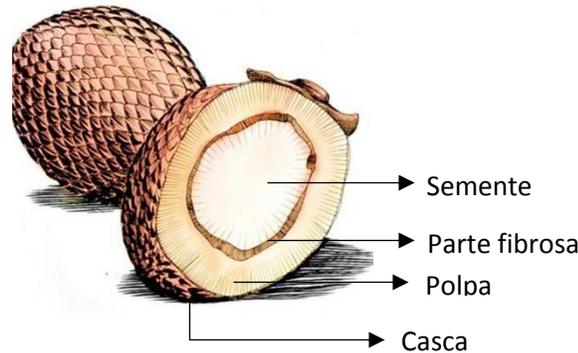


Figura 3. Composição física do fruto do buriti em corte longitudinal.

Fonte: SHANLEY & MEDINA, 2005, alterada.

A semente, ou amêndoa do fruto, fornece óleo láurico de alta qualidade, porém é pouco explorada para esse fim devido sua rigidez, que causa dificuldades no processamento (COSTA, 2012). A semente também é usada como artesanato na fabricação de botões, joias e semijoias (SHANLEY; MEDINA, 2005).

A parte fibrosa, também chamada de bucha, é formada por um tecido esponjoso, delgado, que é usado para fabricar brinquedos, esculturas, substituir rolas de cortiça e fazer caixas nas quais o doce de buriti costuma ser vendido (COSTA, 2012).

A casca contém óleo usado na produção de cosméticos (SHANLEY; MEDINA, 2005), serve como base para frituras e pode ser empregado como corante natural, substituindo os artificiais usados na indústria de alimentos (RODRIGUES-AMAYA, 1999). Esse óleo possui atividade bactericida e antioxidante, além de absorver os raios ultravioletas do sol (SHANLEY; MEDINA, 2005).

A polpa pode ser consumida não apenas *in natura*, mas também com farinha em refeições comuns de algumas regiões e ainda em preparações como sucos, doces, geleias, licores e sorvetes (SAMPAIO et al., 2010). Tanto a composição química quanto o potencial antioxidante do buriti indicam que a fruta é rica em lipídios e contém níveis

significantes de carotenoides, polifenóis, ácido ascórbico e aminoácidos sulfúricos (ROMERO et al., 2015).

Na Tabela 1 é apresentada a composição química da polpa de buriti determinada por diferentes autores. A variação dos resultados pode ser devido às diferenças morfológicas, químicas, grau de maturação e umidade entre as variedades da fruta e métodos de extração empregados (CARNEIRO; CARNEIRO, 2011).

Tabela 1. Composição química da polpa de buriti.

Autor	Umidade (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	Cinzas (%)
Tavares et al., (2003)	67,2	1,5	3,8	26,1	1,4
Manhães (2007)	62,9	2,1	13,8	20,18	0,9
Carneiro; Carneiro (2011)	54,3	1,3	18,2	25,5	0,7

Fonte: CARNEIRO; CARNEIRO, 2011.

Segundo Agostini-Costa e Vieira (2004) a polpa de buriti fornece óleo comestível rico em ácidos graxos monoinsaturados, especialmente ácido oleico, em quantidade superior ao óleo de dendê e ao pequi. De acordo com Donadio et al., (2004), a soja apresenta em média 32% de ácido oleico, enquanto que o buriti maduro apresenta 78% desse ácido graxo.

O buriti é o produto alimentar detentor da maior concentração conhecida de β -caroteno dentro da vasta gama já analisada de alimentos brasileiros. Essa fruta também possui quantidades substanciais de α -caroteno, γ -caroteno e zeaxantina (RODRIGUES-AMAYA et al., 2008).

Segundo Koolen et al., (2013), os extratos de buriti são ricos em polifenóis e entre eles, os flavonoides são os mais abundantes.

3.2 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias que possuem a propriedade química de doar elétrons, o que os tornam capazes de estabilizar as moléculas de radicais livres (ALMEIDA et al., 2006). Estáveis e, portanto, sem a necessidade de atacar novas moléculas, esses radicais livres deixam de agredir os tecidos do organismo, os quais previnem a ocorrência de diversas enfermidades como doenças cardiovasculares, circulatórias, cancerígenas e neurológicas (KUSKOSKI et al., 2005). Uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES; STAHL, 1995).

Esses agentes que protegem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos (BIANCHI; ANTUNES, 1999), como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Principais agentes de defesa antioxidante.

Não enzimático	Enzimático
α -tocoferol (vitamina E)	Superóxido dismutase
β -caroteno	Catalase
Ácido ascórbico (vitamina C)	NADPH-quinona oxidoreductase
Flavonoides	Glutationa peroxidase
Selênio	Enzimas de reparo
Glutationa	
Clorofilina	
L-cisteína	
Curcumina	

Fonte: BIANCHI; ANTUNES, 1999.

Os alimentos, principalmente as frutas, verduras e legumes, contêm agentes antioxidantes, tais como as vitaminas C, E e A, a clorofilina, os flavonoides, carotenoides, curcumina e outros que são capazes de restringir a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

3.2.1 FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos são o maior grupo de fitoquímicos responsáveis por grande parte da atividade antioxidante de plantas e produtos que as usam como base (SULAIMAN et al., 2013). Cerca de 8.000 tipos desses compostos são conhecidos e explorados, e praticamente a metade deles são flavonoides (BIJU et al., 2014).

Os compostos fenólicos possuem diversas funções nas plantas como propriedades sensoriais (cor, aroma, sabor e adstringência), estrutura, polinização, resistência a pestes e predadores, processos germinativos das sementes após colheita e crescimento e também desenvolvimento e reprodução (BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

Quimicamente, esses compostos são aqueles que possuem um ou mais grupos hidroxila ligados diretamente a um anel aromático. O fenol, apresentado na Figura 4, é a estrutura na qual esse grupo químico está inteiramente baseado (VERMERRIS; NICHOLSON, 2008).

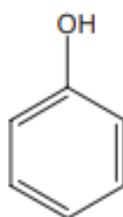


Figura 4. Fenol como base do grupo dos compostos fenólicos.

Fonte: VERMERRIS; NICHOLSON, 2008.

O termo fenólico cobre um vasto e diverso grupo de compostos químicos. Esses compostos podem ser classificados de várias formas e uma delas é a classificação de Harborne e Simmonds (1964), baseada no número de carbonos na molécula, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. Classificação dos fenólicos totais.

Estrutura	Classe
C ₆	Fenólicos simples
C ₆ – C ₁	Ácidos fenólicos e compostos relacionados
C ₆ – C ₂	Acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C ₆ – C ₃	Ácido cinâmico, aldeído cinâmico, álcool cinâmico
C ₆ – C ₃	Cumarinas, isocumarinas e cromonas
C ₁₅	Calconas, auronas, dihidrocalconas
C ₁₅	Flavanas
C ₁₅	Flavonas
C ₁₅	Flavanonas
C ₁₅	Flavonóis
C ₁₅	Antocianidinas
C ₁₅	Antocianinas
C ₃₀	Biflavonoides
C ₆ – C ₁ - C ₆ , C ₆ – C ₂ – C ₆	Benzofenonas, xantonas, stilbenos
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinonas
C ₁₈	Betacianinas
Lignananas, neolignananas	Dímeros ou oligômeros
Lignina	Polímeros
Taninos	Oligômeros ou polímeros
Flobafenos	Polímeros

Fonte: VERMERRIS; NICHOLSON, 2008.

Os compostos fenólicos possuem um vasto espectro de atividade bioquímica como a capacidade antioxidante, antimutagênica, e anticarcinogênica (MARINOVA, et al., 2005). Sua capacidade antioxidante depende amplamente da estrutura química de suas substâncias, por isso há destaque para os flavonoides, taninos, calconas, cumarinas e ácidos fenólicos (MORALES-GONZÁLEZ, 2013).

3.2.2 FLAVONOIDES

Os flavonoides são o maior grupo de compostos fenólicos encontrados naturalmente a partir de diferentes partes das plantas, seja em estado livre ou como glicosídeos. Estima-se que cerca de 2% de todo o carbono utilizado pelas plantas na fotossíntese é convertido em flavonoides ou em compostos intimamente relacionados a eles (ROBARDS; ANTOLOVISH, 1997). Esses compostos são conhecidos por apresentarem diversas atividades biológicas incluindo atividade antimicrobiana,

antiulcerogênica, antiartrítica, antiangiogênica e anticarcinogênica, além de auxiliarem na inibição da proteína quinase e da adesão mitocondrial (SULAIMAN; BALACHANDRAN, 2012).

A atividade dos flavonoides é dependente de sua estrutura e da sua natureza química como grau de hidroxilação, outras substituições, conjugações e grau de polimerização. Os flavonoides tem como base um esqueleto de 15 carbonos consistindo em dois anéis de benzeno (A e B) ligados via anel pirano heterocíclico (C) (KUMAR; PANDEY, 2013), como mostrado na Figura 5. Esses compostos podem ser divididos em várias classes como flavonas, flavonóis e flavanonas (VERMERRIS; NICHOLSON, 2008).

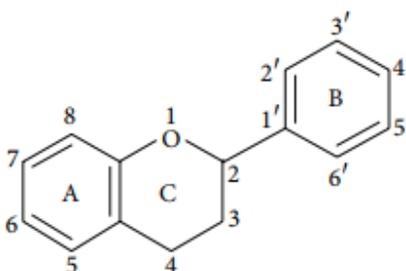


Figura 5. Estrutura básica de um flavonoide.

Fonte: KUMAR; PANDEY, 2013.

3.2.3 CAROTENOIDES

Os carotenoides formam uma das mais importantes classes de pigmentos de plantas e possuem um papel crucial na definição de parâmetros de qualidade de vegetais e frutas (VAN DEN BERG et al., 2000). Esses compostos são responsáveis pela coloração avermelhada, alaranjada e amarelada das flores e frutas e também de alguns animais. Alguns exemplos familiares da presença desse pigmento estão no laranja das cenouras e frutas cítricas, vermelho dos pimentões e tomates, e rosa dos flamingos e do salmão (MORTENSEN, 2006).

Do ponto de vista químico, os carotenoides são compostos poli-isoprenos, consistindo de unidades de isopreno (oito unidades, 40 átomos de carbono) (BUTNARIU, 2016). Eles são estruturalmente divididos em duas grandes classes: carotenos (α -caroteno, β -caroteno, licopeno), os quais possuem ausência de moléculas

de oxigênio (AIZAWA; INAKUMA, 2007), e xantofilas (luteína, zeaxantina, fucoxantina e astaxantina), os quais são oxigenados (PÉREZ-RODRÍGUEZ, 2009). Algumas estruturas pertencentes a essas duas classes de carotenoides se encontram na Figura 6.

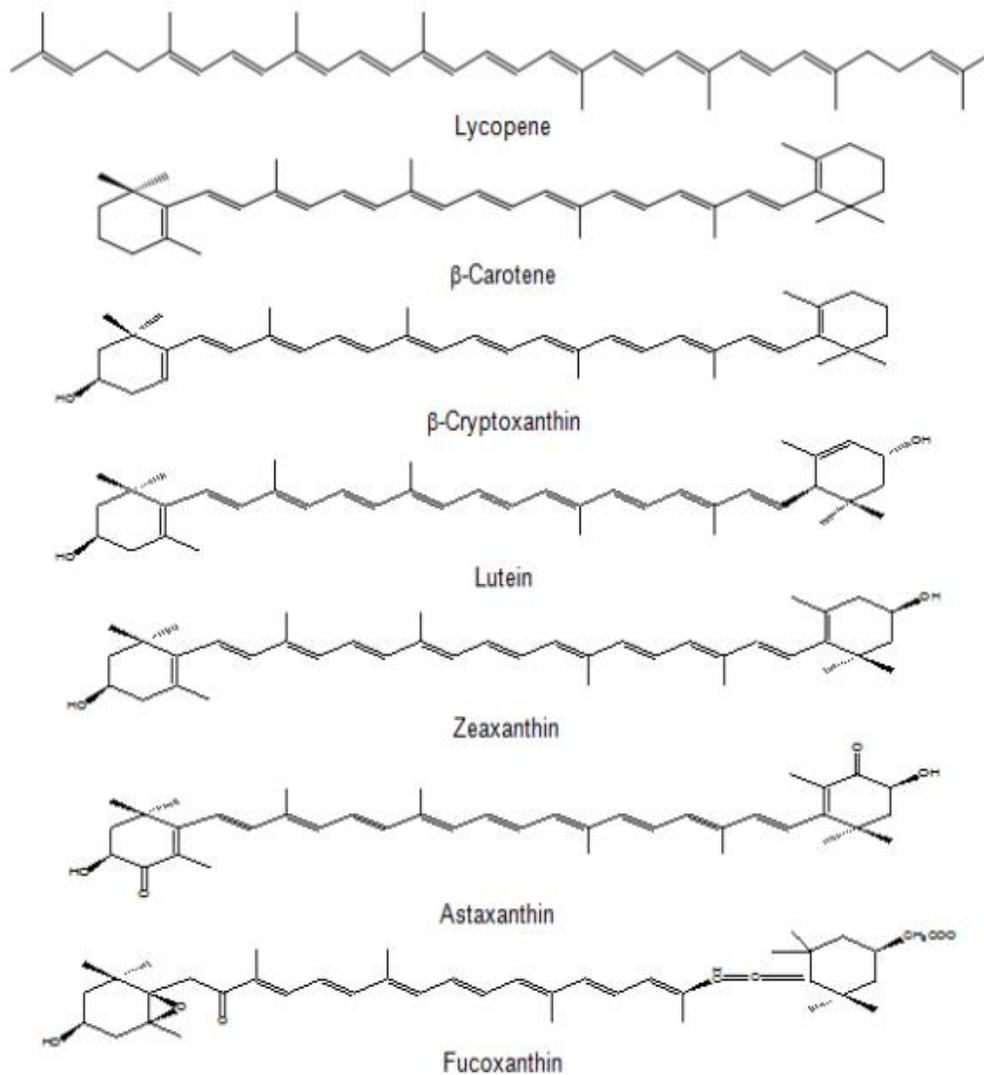


Figura 6. Estruturas químicas de alguns tipos de carotenoides.

Fonte: BUTNARIU, 2016

Os carotenoides são moléculas hidrofóbicas, ou seja, não solúveis em água. Elas são restritas por áreas hidrofóbicas das células e dentro das membranas, exceto em casos em que elas estão combinadas com proteínas em meio aquoso. Grupos funcionais polares alteram sua interação com outras moléculas (BUTNARIU, 2016). Em seres humanos o α -caroteno, o β -caroteno e o β -criptoxantina possuem atividade de vitamina A (são capazes de ser convertidos em retinal). Assim esses e outros tipos de carotenoides podem agir como antioxidantes no organismo (JEYANTHI et al., 2014).

3.3 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ANTIOXIDANTES

O processo de extração é essencial para que compostos bioativos encontrados em plantas possam ser utilizados em produtos alimentares, suplementos, medicamentos, cosméticos, etc. Esses compostos podem ser extraídos de vegetais frescos, congelados ou desidratados (DAI; MUMPER, 2010). Geralmente, antes da extração, os vegetais são moídos, triturados e homogeneizados (ABASCAL et al., 2005). Isso faz com que substratos da planta atinjam maior superfície de contato com o solvente de extração e inativem algumas enzimas oxidativas (SOUZA-SARTORI et al., 2013).

A extração sólido-líquido é utilizada para dissolver um sólido composto por partes solúveis e insolúveis em um solvente líquido. Ao fim dessa extração, a porção solúvel é transferida para o solvente e separada do restante do sólido (FOUST et al., 1982). No tipo mais simples de extração sólido-líquido, há apenas um contato entre o sólido e o solvente de extração, depois do qual são separados. Extrações repetidas com novas porções de solvente melhoram a recuperação de sólidos, porém à custa da produção de certos extratos muito diluídos (BLACKADDER; NEDDERMAN, 2004). Extrações por meio de solventes são comumente usadas para preparar extratos de plantas devido a sua facilidade de uso, eficiência e vasta aplicabilidade (DAI; MUMPER, 2010).

O etanol é um solvente muito usado em extrações de matrizes orgânicas e é frequente em estudos que visam a extração de compostos antioxidantes de frutas. Isso

pode ser verificado em diversos trabalhos publicados como de Andrade et al., (2014) no qual utilizaram solução hidroalcolica na extração de polifenóis do resíduo agroindustrial do caju; de Vizzotto e Pereira et al., (2011) na extração para a determinação de compostos fenólicos de amora preta e em Spagolla et al., (2009) para extrair fenólicos totais e flavonoides de mirtilo.

3.4 MÉTODOS PARA ANÁLISE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS E ANTIOXIDANTES

3.4.1 MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU PARA FENÓLICOS TOTAIS

O ensaio com reagente Folin-Ciocalteu tem sido utilizado por muitos anos pela indústria agrícola e alimentícia para a determinação do conteúdo de fenólicos em produtos naturais (PRIOR et al., 2005). O reagente Folin-Ciocalteu consiste na mistura de fosfomolibdato, fosfotungstato e outros reagentes. Na reação com compostos fenólicos, ele produz coloração azul devido à espécie complexada de molibdênio e absorbe a 765 nm (EVERETTE et al., 2010). Sigleton e Rossi (1965) melhoraram o método analítico com o uso de ácido gálico como fenol padrão. Os autores concluíram ainda que comparado a outros métodos, empregando-se o reagente Folin-Ciocalteu produzia resultados previsíveis para ampla variedade de fenólicos.

3.4.2 MÉTODO DO CLORETO DE ALUMÍNIO PARA FLAVONOIDES

O método de quantificação de flavonoides por espectrofotometria UV/Vis com o cloreto de alumínio é uma técnica acessível, prática e menos onerosa em relação às outras. Na reação, o íon alumínio (Al^{3+}) complexa-se com as moléculas de flavonoides da amostra, estabelecendo o complexo estável flavonoide- Al^{3+} de coloração amarela cuja intensidade é proporcional à concentração de flavonoides presente na amostra. Esta complexação promove a intensificação das absorções, permitindo o

monitoramento dos flavonoides a um comprimento de onda de 510 nm, sem que ocorra interferência de outros compostos fenólicos (PEIXOTO et al., 2012).

3.4.3 MÉTODO DE CAROTENOIDES

Métodos espectrofotométricos clássicos são amplamente usados na análise de carotenoides totais e têm sido adaptados para situações especiais como a análise de alimentos ricos em tipos específicos de carotenoides, empregando comprimentos de onda selecionados (BIEHLER et al., 2010). Para a extração de carotenoides totais, solventes orgânicos como clorofórmio, hexano, acetona, éter de petróleo, álcool isopropílico são geralmente usados (BUTNARIU, 2016). Diversos estudos monitoram esses compostos em espectrofotômetro UV-Vis a 450 nm e utilizam diferentes equações para obter seu teor em $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ (CARVALHO et al., 2012; NELLIS et al., 2017).

3.4.4 MÉTODO DPPH

O método DPPH é baseado na transferência de elétrons de um antioxidante ou uma espécie radicalar para a molécula de 2,2-diphenil-1-picrilhidrazil (DPPH) de cor púrpura que é reduzido a difenil-picril-hidrazina de coloração amarela, com consequente redução da absorvância dessa molécula podendo então ser monitorado por espectrofotômetro UV-Vis a um comprimento de onda de 515 nm para a determinação de capacidade antioxidante (ROESLER et al., 2007).

3.4.5 MÉTODO ABTS

A captura do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) é um dos métodos mais utilizados para medir a capacidade antioxidante (RUFINO et al., 2007). O método baseia-se na geração do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com perssulfato de potássio que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante, ocorre a redução do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a

ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional, permitindo assim o monitoramento por espectrofotômetro UV-Vis (RE et al., 1999).

3.4.6 MÉTODO FRAP

O ensaio antioxidante de determinação do poder de redução do íon ferro, FRAP (do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Power*), está baseado na produção de íon Fe^{2+} (forma ferrosa) a partir da redução do íon Fe^{3+} (forma férrica) presente no complexo 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ). Quando a redução ocorre, há uma alteração na tonalidade do meio reacional, passando de roxo claro a um roxo intenso, cuja absorbância pode ser medida no comprimento de onda 595 nm por espectrofotômetro UV-Vis. Quanto maior a absorbância ou intensidade da coloração maior será o potencial antioxidante (VICTORIA et al., 2016).

3.5 LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

O limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições estabelecidas do método (SHABIR, 2004). Esse limite é a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero (INMETRO, 2010).

O limite de quantificação (LQ) indica a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e exatidão (THOMPSON et al., 2002). É a característica de desempenho que define a habilidade de um processo de medida química quantificar um analito adequadamente (CURRIE, 1995).

3.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Um experimento é caracterizado por tratamentos, unidades experimentais, atribuição dos tratamentos às unidades experimentais, e respostas obtidas. Esses componentes especificam o delineamento experimental (OEHLERT, 2000) que é o

processo de planejar um estudo para alcançar objetivos específicos. O experimento que possui planejamento adequado assegura que os tipos certos de dados e as características adequadas da amostra estejam disponíveis para responder as perguntas de interesse na pesquisa, da forma mais clara e eficiente possível (SAS, 2005).

As técnicas de delineamento experimental, comumente usadas, para análise de processamento e modelagem são o delineamento fatorial completo, fatorial fracionado e composto central (ASLAN, 2008). Dentre essas técnicas, o delineamento composto central (DCC) é a mais popular para o ajuste de modelos até segunda ordem além de ser conhecido por sua flexibilidade permitindo a utilização em diferentes regiões de interesse experimental e possuir menor número de combinações entre os níveis dos fatores quando comparado a outros delineamentos (MENDONÇA, 2012).

O DCC é constituído por três partes: fatorial (ou cúbica), axial (ou em estrela) e central, como mostrado na Figura 7. Os pontos fatoriais contribuem para a estimativa dos efeitos das interações. São combinações geralmente utilizadas em ajustes de modelos de primeira ordem ou com ou sem interações duplas entre os fatores. Os pontos axiais, por sua vez, são situados nos eixos do sistema de coordenadas com distância $\pm \alpha$ da origem (MENDONÇA, 2012) e contribuem na estimativa dos termos quadráticos do modelo de segunda ordem. Por fim, o ponto central é responsável pela estimativa dos efeitos quadráticos e, quando repetido, possibilita estabilização da variância da resposta prevista e a estimativa do erro puro (PERÁZIO, 2010).

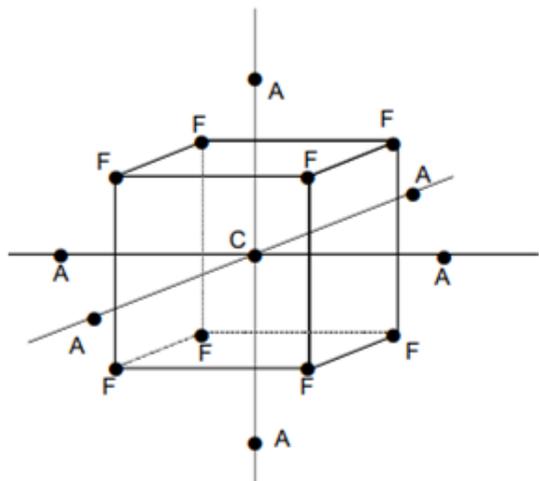


Figura 7. DCC com três fatores mostrando os pontos fatoriais (F), axiais (A) e central (C).

Fonte: OEHLERT, 2000.

Geralmente, um DCC para k fatores, cujos níveis são combinados, é dado pelo conjunto constituído pelos seguintes tratamentos com níveis codificados: $(1,1,\dots,1)$; $(-1,1,\dots,1)$;...; $(-1, -1,\dots, -1)$ correspondentes à parte fatorial, totalizando 2^k combinações, $(-\alpha, 0,\dots,0)$; $(\alpha, 0, \dots, 0)$; $(0, -\alpha, \dots, 0)$; $(0, \alpha, \dots, 0)$; $(0, 0, \dots, -\alpha)$; $(0, 0, \dots, \alpha)$ correspondentes à parte axial, totalizando $2k$ combinações e $(0, 0, \dots, 0)$ correspondente ao ponto central (MENDONÇA, 2012). O total de combinações entre os níveis dos k fatores estudados (N_c) sem repetição do ponto central é mostrado na Equação 1 a seguir:

$$N_c = 2^k + 2k + 1 \quad (\text{Equação 1})$$

Um DCC deve, ainda, apresentar homogeneidade da variância dos valores preditos da resposta em todas as direções. Com objetivo de obter tal homogeneidade, Box e Hunter, 1957, propuseram o conceito de rotacionalidade como critério para a escolha do valor de α . Um DCC é considerado rotacional, quando as variâncias das predições da resposta dependem apenas da distância em relação ao ponto central. Dessa forma, se obtém um delineamento composto central rotacional (DCCR) quando $\pm\alpha = \pm\sqrt[4]{2^k}$, sendo k o número de fatores (PERÁZIO, 2010).

3.7 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma técnica de otimização baseada em delineamentos experimentais que foi introduzida por Box, G. E. P. na década de 1950 e desde então tem sido usada com sucesso na modelagem de diversos processos industriais e em desenvolvimento de pesquisas (NETO et al., 2010). É uma ferramenta que se baseia na variação simultânea de vários fatores (variáveis independentes), previamente selecionados por sua influência nas propriedades do processo (variáveis dependentes ou respostas) (GRIZOTTO et al., 2005).

Essa técnica consiste na escolha de um delineamento experimental seguida de modelagem matemática, que é realizada ajustando-se modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais, obtidos através de planejamentos fatoriais com ou sem ampliação. Após esta etapa é possível deslocar-se sobre a superfície de resposta ajustada, a fim de localizar regiões que satisfaçam condições de interesse (NETO et al., 2010).

3.8 MODELAGEM MATEMÁTICA

Os modelos matemáticos usados na MRS foram designados para descrever sistemas físicos por meio de equações ou estruturas computacionais (BELLOMO et al., 2007). A modelagem normalmente é feita ajustando-se esses modelos (em geral, lineares ou quadráticos) às respostas obtidas com delineamentos experimentais (NETO et al., 2010).

Se a resposta pode ser definida por uma função linear de variáveis independentes, a função de aproximação pode ser um modelo de primeira ordem (Equação 2), porém, se há uma curvatura na superfície de resposta, a função pode ser um modelo de segunda ordem (Equação 3) (BRADLEY, 2007).

$$\hat{Y} = b_0 + \sum_{i=1}^2 b_i x_i \quad (\text{Equação 2})$$

$$\hat{Y} = b_0 + \sum_{i=1}^2 b_i x_i + \sum_{i=1}^2 b_{ii} x_i^2 + \sum_{i \neq j=1}^2 b_{ij} x_i x_j \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo \hat{Y} , a resposta predita, b_0 o intercepto, b_i , b_{ii} e b_{ij} os coeficientes de regressão lineares, quadráticos e de interação respectivamente, e x_i e x_j os níveis das variáveis independentes.

Para entender as superfícies de resposta, gráficos são ferramentas úteis, porém quando há mais de duas variáveis independentes, eles se tornam difíceis ou quase impossíveis de serem usados já que ultrapassam as três dimensões. Gráficos de contorno são mais fáceis de visualizar e proporcionam melhor compreensão do comportamento das variáveis na superfície de resposta (OEHLERT, 2000). Independentemente da projeção gráfica, os modelos de superfície de resposta são essenciais para analisar os efeitos das variáveis independentes (BRADLEY, 2007).

4. MÉTODOS E PROCEDIMENTOS

4.1 SOLVENTES E REAGENTES

Os solventes e reagentes empregados na extração e nas determinações analíticas foram: água purificada pelo sistema de osmose reversa, etanol 92,8%, metanol 99,8%, hidróxido de sódio PA, carbonato de sódio aquoso, ácido clorídrico PA, cloreto férrico PA, nitrito de sódio PA, cloreto de alumínio PA e persulfato potássico da marca VETEC, reagente Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), catequina hidratada 98%, 2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico) sal diamônio (ABTS), 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico (Trolox) da marca SIGMA, Tween 80 0,01% da marca SYNTH. Todos os reagentes utilizados foram de elevada pureza.

4.2 PREPARO DA AMOSTRA

Os buritis foram adquiridos no comércio varejista da cidade de Itapecuru Mirim, MA em janeiro de 2016. O transporte até a cidade de Campo Mourão, PR foi feito com a fruta congelada e armazenada com cubos de gelo em caixa de isopor. Nas dependências da UTFPR Campo Mourão a polpa da fruta foi separada da casca e da semente de forma manual e foi pressionada sobre peneira (BERTEL, Mesh 16) para a obtenção de uma massa homogeneizada. Posteriormente, a polpa foi embalada a vácuo (SULPACK, SV460, Caxias do Sul, Brasil) em sacos plásticos de 15,7 x 20 cm e 10 µm de espessura, como mostrado na Figura 8, e armazenada a -20°C por 30 dias até o momento das extrações.



Figura 8. Polpa de buriti homogeneizada e embalada a vácuo.

Fonte: A autoria própria, 2016.

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Com o objetivo de realizar as extrações em diferentes condições, o delineamento experimental foi feito por meio do DCCR no programa Statistica[®] 8.0 (STATSOFT INCORPORATION, Tulsa, OK, USA, 2007). O DCCR foi composto por 19 experimentos, sendo 5 deles repetições do ponto central e cada variável foi investigada em 5 níveis: $-\alpha$, -1, 0, +1 e $+\alpha$.

Três fatores (variáveis independentes) foram considerados no DCCR: percentagem de razão sólido/líquido (polpa/solução extratora), percentagem de razão líquido/líquido (etanol/água) e temperatura. As faixas usadas nos ensaios das extrações para a percentagem de polpa, percentagem de etanol e temperatura foram de 5 a 20%, 15 a 65% e 30 a 70°C respectivamente (YIM et al., 2009; CHEW et al., 2011).

Inicialmente os ensaios foram feitos com percentagem de polpa entre 5 e 25%, porém o agitador mecânico não suportou a quantidade de sólidos resultando em dificuldade visível de mistura e homogeneização com a solução extratora, o que condicionou o trabalho dessa variável a uma faixa menor.

Na Tabela 4 é apresentado o DCCR para as extrações de polpa de buriti com as condições determinadas pelas variáveis independentes. Os valores apresentados foram arredondados para possibilitar a reprodução das condições nos equipamentos laboratoriais.

Tabela 4. Delineamento composto central rotacional (DCCR) com três variáveis independentes: X1 (polpa/solução extratora), X2 (etanol/água) e X3 (temperatura).

Variáveis Independentes						
Ensaio	Codificada			Decodificada		
	X ₁	X ₂	X ₃	Polpa (% m v ⁻¹)	Etanol (% v v ⁻¹)	Temperatura (°C)
1	-1,0000	-1,0000	-1,0000	8,04	25,13	38,11
2	-1,0000	-1,0000	1,0000	8,04	25,13	61,89
3	-1,0000	1,0000	-1,0000	8,04	54,87	38,11
4	-1,0000	1,0000	1,0000	8,04	54,87	61,89
5	1,0000	-1,0000	-1,0000	16,96	25,13	38,11
6	1,0000	-1,0000	1,0000	16,96	25,13	61,89
7	1,0000	1,0000	-1,0000	16,96	54,87	38,11
8	1,0000	1,0000	1,0000	16,96	54,87	61,89
9	-1,6818	0,0000	0,0000	5,00	40,00	50,00
10	1,6818	0,0000	0,0000	20,00	40,00	50,00
11	0,0000	-1,6818	0,0000	12,50	15,00	50,00
12	0,0000	1,6818	0,0000	12,50	65,00	50,00
13	0,0000	0,0000	-1,6818	12,50	40,00	30,00
14	0,0000	0,0000	1,6818	12,50	40,00	70,00
15	0,0000	0,0000	0,0000	12,50	40,00	50,00
16	0,0000	0,0000	0,0000	12,50	40,00	50,00
17	0,0000	0,0000	0,0000	12,50	40,00	50,00
18	0,0000	0,0000	0,0000	12,50	40,00	50,00
19	0,0000	0,0000	0,0000	12,50	40,00	50,00

4.4 MÉTODO DE EXTRAÇÃO

Para a realização das extrações da polpa de buriti, a temperatura da polpa foi controlada entre 20 e 22 °C e a solução extratora (etanol/água) foi mantida em banho termostático (TECNAL, TE184, Piracicaba, Brasil) até atingir a temperatura estabelecida. Em seguida, a polpa foi pesada dentro de um reator em balança analítica (SHIMADZU, AY220, Barueri, Brasil) e foram adicionados 50 mL de solução extratora. Utilizando um agitador mecânico com hélice (FISATOM, 713D, São Paulo, Brasil) sobre o reator, a polpa e a solução foram agitadas a 4.000 rpm, por uma hora. O processo de extração foi conduzido com o reator dentro do banho termostático para controlar a temperatura em cada ensaio.

Após o tempo de extração, a mistura foi centrifugada (NOVATECNICA, NT825, Piracicaba, Brasil) a 6.000 rpm, por 15 min em temperatura ambiente, e resultou em extrato mostrado na Figura 9.



Figura 9. Extrato de polpa de buriti.

Fonte: Autoria própria, 2016.

Os extratos sobrenadantes foram coletados, tendo sua fração de etanol evaporada a baixa pressão em evaporador rotativo (TECNAL, TE-211, Maringá, Brasil) a 35°C e foram então congelados a -85 °C em ultra freezer (LIOTOP, 0FR30, São Carlos, Brasil).

Ao serem retirados do ultra freezer, os extratos foram liofilizados (LIOTOP, L101, São Carlos, Brasil) por 48 h e suspensos com 15 mL de solução água/Tween 80 a 0,01%.

A reevaporação do etanol e a liofilização foram necessárias para que os extratos fossem aplicados em outra pesquisa envolvendo o cultivo de micro-organismos. A ressuspensão em solução aquosa de Tween foi feita para garantir a homogeneização dos extratos em todas as análises.

Para evitar reações de hidrólise, oxidação e/ou isomerização pela presença da luz, todos os recipientes utilizados foram recobertos com papel alumínio.

4.5 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Os extratos suspensos foram analisados quanto a fenólicos totais, flavonoides totais, carotenoides totais e capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP. Todas as análises foram feitas em triplicata e em sala escura. Para realizar a leitura das absorbâncias em todas as análises, o espectrofotômetro UV-Vis (OCEAN OPTICS, USB-650 RED TIDE, São Paulo, Brasil) foi utilizado juntamente com o programa SpectraSuite[®] 2.0 (OCEAN OPTICS, Dunedin, FL, USA, 2009). Cubetas de quartzo foram utilizadas em todas as análises espectrofotométricas. Foram

determinados ainda os limites de detecção e de quantificação para cada determinação analítica utilizando 10 testes brancos, ou seja, executados sem a presença de extrato de polpa de buriti.

4.5.1 FENÓLICOS TOTAIS

Os extratos hidroetanólicos ressuspendidos foram analisados quanto ao teor de fenólicos totais segundo o método de Folin-Ciocalteu. Para a sua determinação foram utilizados 30 μL de extrato, 2.370 μL de água e 150 μL do reagente Folin-Ciocalteu. A solução foi homogeneizada, e após 2 minutos foram adicionados 450 μL de carbonato de sódio 15 % (aq). Após 2 horas, foi feita a leitura da absorbância das amostras a 765 nm (SIGLETON; ROSSI, 1965). Para a quantificação do teor de fenólicos totais, foi usada uma curva padrão de ácido gálico (AG) apresentada na Figura 10, com os valores de concentração de 30, 177, 324, 618, 912, 1206 e 1500 mg L^{-1} ($\text{Abs} = 0,0011\text{AG} - 0,0088$, $R^2 = 0,9994$) e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra ($\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$).

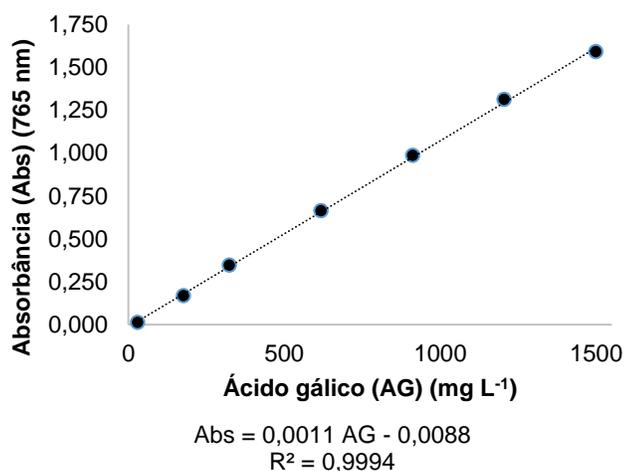


Figura 10. Curva padrão de ácido gálico para a concentração de fenólicos totais dos extratos da polpa de buriti.

4.5.2 FLAVONOIDES

Para a análise do teor de flavonoides, foram utilizados 250 μL de extrato hidroetanólico ressuspendido, 1.000 μL de água e 75 μL de nitrito de sódio 5% (aq). A solução foi centrifugada, após 5 minutos foram adicionados 75 μL de cloreto de alumínio 10% (aq) e após 6 minutos foram adicionados 500 μL de hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} (aq). A leitura da absorbância das amostras foi feita em 510 nm (ANNEGOWDA et al., 2013). Foi usada uma curva padrão de catequina (C), apresentada a Figura 11, com os valores de concentração de 15, 100, 200, 300, 375 e 450 mg L^{-1} ($\text{Abs} = 0,0043 \text{ C} + 0,0407$, $R^2 = 0,9987$) e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de catequina por cem gramas de amostra ($\text{mg EC } 100 \text{ g}^{-1}$).

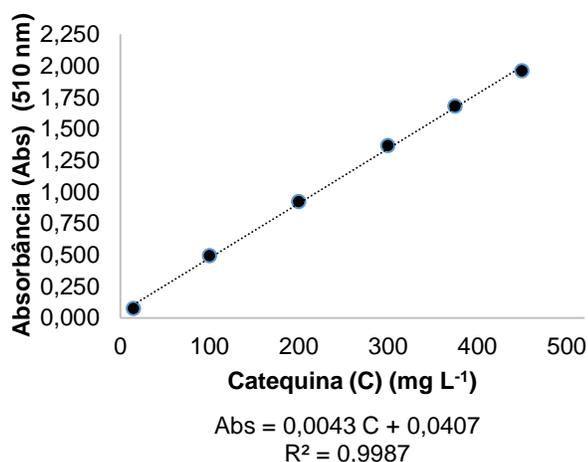


Figura 11. Curva padrão de catequina para a concentração de flavonoides dos extratos da polpa de buriti.

4.5.3 CAROTENOIDES

A determinação do teor de carotenoides totais foi realizada por meio de adaptações do método descrito pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists) em que 250 μL de extrato hidroetanólico ressuspendido, 1,5 mL de álcool isopropílico e 500 μL de hexano foram agitados em vórtex (BIOMIXER, QL901, Ribeirão Preto, Brasil) durante 1 minuto. Os homogenatos foram adicionados de 4,25 mL de água destilada, agitados em vórtex por 30 segundos e centrifugados a 4000 rpm durante 5 minutos a

temperatura ambiente. O sobrenadante foi coletado e inserido em um novo tubo e passou pelo processo de enxágue e centrifugação por mais três vezes. A fase superior obtida na última centrifugação foi retirada e inserida em uma proveta de 10 mL que foi completada até o nível de 2,5 mL com acetona 10 % em hexano e agitada. A leitura da absorbância foi feita à 450 nm (HORWITZ; LATIMER, 2012). A Equação 4 foi usada para a obtenção dos resultados expressos em miligramas por cem gramas de amostra ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) que posteriormente foram convertidos para serem expressos em miligramas por quilo de amostra (mg kg^{-1}) (SOUSA et al., 2008).

$$\text{Teor de carotenoides totais (mg } 100 \text{ g}^{-1}) = \frac{\text{Abs} \times 100}{250 \times L \times W} \quad (\text{Equação 4})$$

na qual: Abs é a absorbância, L é a largura da cubeta e W é o quociente original entre a amostra inicial e o volume final da diluição.

4.5.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

4.5.4.1 DPPH

Para realizar a avaliação dos extratos por meio desse método, foram homogeneizados 100 μL de extrato hidroetanólico ressuspenso e 3.900 μL de solução de DPPH 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Após 30 minutos, as absorbâncias foram lidas em 515 nm (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Foi usada uma curva padrão de trolox (T) apresentada na Figura 12 com valores de concentração de 50, 275, 500, 700, 850 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($\text{Abs} = -0,0005 T + 0,6637$; $R^2 = 0,9996$) para a conversão em resultados expressos em micromol equivalentes de trolox por grama de matriz ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$).

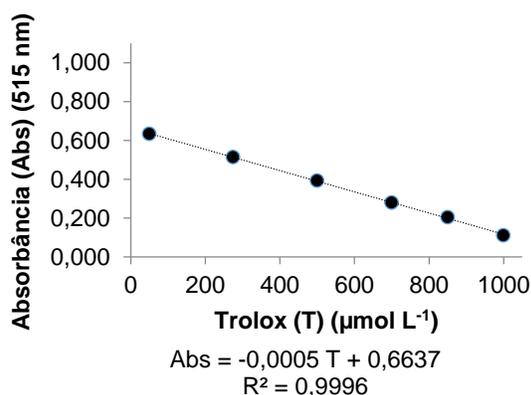


Figura 12. Curva padrão de trolox para a concentração de antioxidantes dos extratos da polpa de buriti avaliados pelo método DPPH.

4.5.4.2 ABTS

Para avaliar os extratos por meio do método ABTS, foi considerado o método de Arnao et al., (2001) modificado por Thaipong et al., (2006) no qual foram preparadas duas soluções estoque. A primeira solução de 7,4 mM de ABTS^{•+} e a segunda de 2,6 mM de persulfato de potássio, ambas com 20 mL de água destilada. As soluções foram misturadas para formar a solução de trabalho que reagiu durante 12 horas em ambiente escuro e à temperatura ambiente. A solução de trabalho foi então diluída com 60 mL de metanol e 2.850 μL desta foram misturados com 150 μL de extrato hidroetanólico ressuspendido. A leitura das absorbâncias foi realizada após 2 horas em 734 nm. Foi usada uma curva padrão de trolox (T), apresentada na Figura 13 com valores de concentração de 50, 140, 230, 320, 410 e 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($Abs = -0,0017 T + 1,0678$; $R^2 = 0,9994$) e os resultados foram expressos em micromol equivalentes de trolox por grama de matriz ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$).

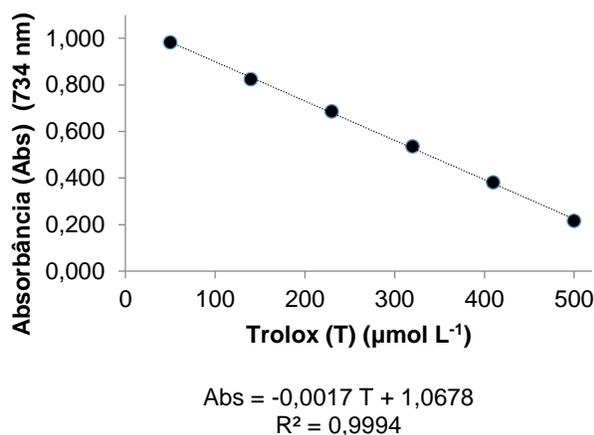


Figura 13. Curva padrão de trolox para a concentração de antioxidantes dos extratos da polpa de buriti avaliados pelo método ABTS.

4.5.4.3 FRAP

Para realizar a análise quanto à capacidade antioxidante pelo método FRAP, foram utilizados 100 μL de extrato hidroetanólico ressuspendido, 300 μL de água destilada e 3 mL de complexo férrico preparado previamente com TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine), cloreto férrico e tampão acetato (1:1:10 v v⁻¹). A solução ficou em banho térmico à 37°C durante 30 minutos e a leitura das absorbâncias foi realizada a 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996). Foi usada uma curva padrão de trolox (T) como apresentada na Figura 14 com valores de concentração de 50, 250, 500, 750 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($Abs = 0,0012 T + 0,0008$; $R^2 = 0,9971$) e os resultados foram expressos em micromol equivalentes de trolox por grama de matriz ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$).

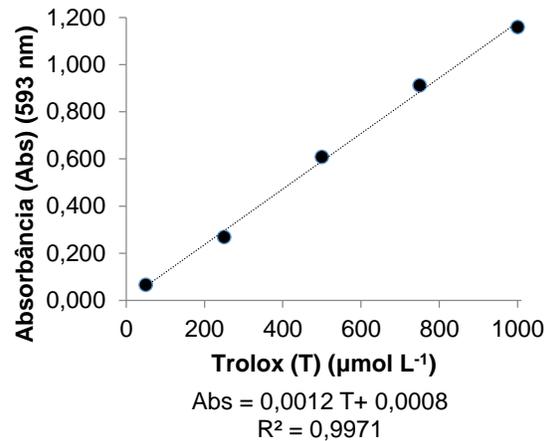


Figura 14. Curva padrão de trolox para a concentração de antioxidantes dos extratos da polpa de buriti avaliados pelo método FRAP.

4.6 MODELAGEM E ANÁLISE ESTATÍSTICA

A modelagem matemática foi executada pelo programa Statistica® 8.0 (StatSoft Incorporation, Tulsa, OK, USA, 2007). Os valores médios das respostas foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem cujos coeficientes de regressão foram obtidos por regressão linear múltipla. Os coeficientes foram analisados pelo teste t e excluídos do modelo quando não significativos ($p < 0,05$).

Os modelos foram avaliados por análise de regressão (R^2 e R^2 ajustado) e de variância (ANOVA ($p < 0,05$)).

As relações entre as variáveis independentes foram analisadas por meio de gráficos de contorno nos quais as regiões em tons de vermelho, amarelo e verde representaram alto, médio e baixo teor de antioxidantes, respectivamente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 LIMITE DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO

Na Tabela 5 são apresentados os valores dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para a construção das curvas analíticas usadas nos métodos de determinação antioxidante dos extratos da polpa de buriti.

Tabela 5. Concentrações limites de detecção e quantificação para as curvas analíticas das determinações empregados nos extratos da polpa de buriti.

Limites	Fenólicos totais	Flavonoides	DPPH	ABTS	FRAP
	Ácido gálico (mg L ⁻¹)	Catequina (mg L ⁻¹)	Trolox (µmol L ⁻¹)		
LD	4,191	5,720	-13,506	-1,897	43,692
LQ	19,969	13,066	-45,019	-6,323	45,639

Esses dados foram utilizados para garantir que as curvas analíticas apresentassem concentrações significantes de cada composto antioxidante existente no extrato.

5.2 RESPOSTA DOS TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Na Tabela 6 são apresentadas as respostas dos teores de compostos bioativos e capacidade antioxidante para cada condição de extração em que a polpa de buriti foi submetida.

As variações de compostos bioativos foram de 104,64 a 270,61mg EAG 100 g⁻¹ para fenólicos totais, de 17,74 a 60,46 mg EC 100 g⁻¹ para flavonoides totais e de 1,30 a 3,92 mg kg⁻¹ para carotenoides totais. A capacidade antioxidante dos extratos avaliados pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP variou de 1,23 a 3,47 µmol ET g⁻¹, 6,34 a 15,86 µmol ET g⁻¹ e 4,74 a 11,95 µmol ET g⁻¹, respectivamente.

Observou-se discrepância entre os valores que medem a capacidade antioxidante. De acordo com Thaipong et al., (2006), isso ocorre devido ao tempo de reação dos reagentes utilizados nos métodos com os compostos sólidos da matriz.

Os extratos obtidos em todos os ensaios e avaliados pelos métodos propostos apresentaram teores de compostos bioativos e capacidade antioxidante, o que comprovou a eficiência das extrações.

Tabela 6. Condições experimentais e respostas dos teores de compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos da polpa de buriti.

Variáveis independentes				Variáveis dependentes					
Ensaio	Polpa (%, m. v ⁻¹)	Etanol (%, v. v ⁻¹)	T (°C)	Compostos bioativos			Capacidade antioxidante		
				Fenólicos Totais (mg EAG 100g ⁻¹)	Flavonoides Totais (mg EC 100g ⁻¹)	Carotenoides Totais (mg kg ⁻¹)	DPPH (μmol ET.g ⁻¹)	ABTS (μmol ET.g ⁻¹)	FRAP (μmol ET.g ⁻¹)
1	8,04	25,13	38,11	225,16 ± 10,66	47,03 ± 2,17	2,37 ± 0,07	3,40 ± 0,15	13,95 ± 0,63	10,32 ± 0,44
2	8,04	25,13	61,89	161,34 ± 4,36	30,48 ± 1,96	2,42 ± 0,06	1,59 ± 0,06	9,64 ± 0,34	7,18 ± 0,15
3	8,04	54,87	38,11	270,61 ± 4,81	35,54 ± 1,58	2,50 ± 0,02	3,47 ± 0,08	15,61 ± 0,57	11,95 ± 0,57
4	8,04	54,87	61,89	221,47 ± 11,30	28,66 ± 0,61	2,71 ± 0,012	3,07 ± 0,12	14,24 ± 0,32	9,69 ± 0,58
5	16,96	25,13	38,11	152,06 ± 9,27	27,01 ± 1,04	2,17 ± 0,03	1,67 ± 0,04	7,32 ± 0,10	6,74 ± 0,19
6	16,96	25,13	61,89	130,19 ± 2,86	23,98 ± 0,71	2,29 ± 0,07	1,52 ± 0,06	7,48 ± 0,05	5,59 ± 0,12
7	16,96	54,87	38,11	214,30 ± 1,61	29,81 ± 1,90	3,73 ± 0,02	2,28 ± 0,06	12,38 ± 0,44	9,82 ± 0,36
8	16,96	54,87	61,89	185,19 ± 6,26	25,02 ± 0,84	3,92 ± 0,06	2,57 ± 0,06	9,80 ± 0,48	6,14 ± 0,22
9	5,00	40,00	50,00	266,33 ± 1,26	60,46 ± 2,90	2,37 ± 0,09	3,40 ± 0,15	15,96 ± 0,64	11,86 ± 0,19
10	20,00	40,00	50,00	195,04 ± 5,83	23,15 ± 0,46	3,57 ± 0,09	2,06 ± 0,09	10,81 ± 0,41	8,65 ± 0,10
11	12,50	15,00	50,00	104,64 ± 12,52	24,80 ± 0,73	1,30 ± 0,05	1,23 ± 0,06	6,34 ± 0,19	4,74 ± 0,19
12	12,50	65,00	50,00	148,64 ± 3,88	17,74 ± 0,44	2,56 ± 0,04	2,17 ± 0,11	8,45 ± 0,33	7,35 ± 0,13
13	12,50	40,00	30,00	206,95 ± 7,62	25,36 ± 1,77	2,72 ± 0,09	2,39 ± 0,06	10,79 ± 0,45	7,95 ± 0,21
14	12,50	40,00	70,00	146,09 ± 3,93	22,17 ± 0,31	2,86 ± 0,10	1,87 ± 0,08	8,15 ± 0,33	5,53 ± 0,16
15	12,50	40,00	50,00	180,86 ± 1,53	25,69 ± 1,19	3,16 ± 0,10	3,33 ± 0,16	9,46 ± 0,13	6,50 ± 0,31
16	12,50	40,00	50,00	196,93 ± 3,17	27,81 ± 1,99	3,21 ± 0,13	3,38 ± 0,10	10,83 ± 0,05	7,48 ± 0,15
17	12,50	40,00	50,00	199,48 ± 3,96	25,21 ± 0,67	2,75 ± 0,07	3,37 ± 0,11	10,67 ± 0,07	7,72 ± 0,06
18	12,50	40,00	50,00	199,48 ± 16,68	24,85 ± 1,43	2,74 ± 0,06	3,09 ± 0,12	10,53 ± 0,05	7,55 ± 0,05
19	12,50	40,00	50,00	166,46 ± 12,95	32,05 ± 1,08	2,68 ± 0,08	3,19 ± 0,15	10,69 ± 0,24	7,42 ± 0,03

Notas: Média dos resultados obtidos através das análises descritas ± desvio padrão. T corresponde a temperatura.

5.3 MODELOS MATEMÁTICOS AJUSTADOS

Os coeficientes de regressão estatisticamente significativos ($p < 0,05$) que formam os modelos matemáticos ajustados são apresentados na Tabela 7, em que os valores de \hat{A} até \hat{C} e \hat{D} até \hat{F} correspondem à capacidade de extração de compostos bioativos e à capacidade de extração de antioxidantes por grama de matriz, respectivamente.

Tabela 5. Modelos matemáticos ajustados de previsão do teor dos compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos da polpa de buriti.

Métodos analíticos	Modelos ajustados
Fenólicos Totais	$\hat{A} = 187,49 - 23,19 x_1 + 18,72 x_1^2 + 21,73 x_2 - 18,06 x_2^2 - 19,50 x_3$
Flavonoides	$\hat{B} = 25,06 - 7,22 x_1 + 5,91 x_1^2 - 1,56 x_2 - 2,68x_3$
Carotenoides	$\hat{C} = 2,96 + 0,30 x_1 + 0,42 x_2 - 0,31 x_2^2 + 0,06x_3 + 0,34x_1x_2$
DPPH	$\hat{D} = 3,26 - 0,42x_1 - 0,12x_1^2 + 0,35x_2 - 0,48x_2^2 - 0,22x_3 - 0,33x_3^2 + 0,29x_1x_3 + 0,23x_2x_3$
ABTS	$\hat{E} = 10,31 - 1,84x_1 + 1,32x_1^2 + 1,26x_2 - 0,80x_2^2 - 0,92x_3$
FRAP	$\hat{F} = 7,02 - 1,19x_1 + 1,23x_1^2 + 0,89x_2 - 1,05x_3$

5.3.1 EFEITOS DA PORCENTAGEM DE POLPA

A maioria dos modelos apresentados na Tabela 7 possuíam termos com efeito linear negativo e quadrático positivo para a percentagem de polpa de buriti (x_1) que corresponde à razão sólido solvente da extração. Isso indicou que o aumento do teor de sólidos dificultou a extração dos compostos bioativos e outros antioxidantes até cerca de 12,5% (ponto central do delineamento para essa variável) e a partir desse ponto, o efeito negativo tornou-se menos intenso.

A diminuição da extração dos compostos por grama de polpa pode ter explicação na velocidade de agitação das partículas, que certamente sofreu queda, dentro do reator, quando a quantidade de sólidos foi maior, dificultando assim o contato entre o solvente e os sólidos da polpa. Com o aumento do teor de sólidos, ainda, o solvente se tornou saturado, diminuindo a capacidade de extração (WHITE; HOWARD, 2012; DAI; MUMPER, 2010).

O modelo de previsão da capacidade antioxidante dos extratos avaliados pelo método DPPH apresentou particularidade, pois, além do termo linear, o seu termo quadrático também teve efeito negativo para percentagem de polpa de buriti. Isso significou que o aumento do teor de sólidos na extração causou diminuição no rendimento da capacidade antioxidante dos extratos. Com uma tendência similar a da maioria dos outros compostos, a extração certamente foi menos intensa porque a alta quantidade de sólidos interferiu no contato sólido-solvente e tornou o solvente muito saturado, como mencionado anteriormente.

Ao contrário do que ocorreu com a maioria dos outros compostos, o modelo que descreve a extração de carotenoides apresentou termo linear positivo para percentagem de polpa de buriti. Isso indicou que o aumento de sólidos causou aumento na extração de carotenoides por grama de matriz. Segundo Norshazila et al., (2017) que analisou o efeito da razão sólido-solvente na extração de carotenoides em extratos de abóbora, a alta razão sólido-solvente (percentagem de polpa na solução extratora) aumenta o gradiente de concentração da solução, e portanto, aumenta a taxa de difusão permitindo maior extração de carotenoides pelo solvente.

5.3.2 EFEITOS DA PORCENTAGEM DE ETANOL

A maior parte dos modelos ajustados de previsão apresentaram efeito linear positivo e efeito quadrático negativo para percentagem de etanol na solução extratora (x_2), indicando que o aumento da concentração de etanol beneficiou a extração desses compostos por grama de matriz até cerca de 40% (ponto central do delineamento para essa variável) e a partir dessa porcentagem a extração diminuiu não linearmente.

Segundo Bailón e Buelga (2003), o aumento do teor de etanol permitiu a solubilização parcial das membranas das células da matriz, melhorando o acesso aos antioxidantes ligados. No entanto, isso não aconteceu indefinidamente porque, em determinado ponto, o etanol certamente passou a desidratar as membranas e a dificultar a ação da água em interagir com antioxidantes polares ligados às células da polpa. Embora o etanol também tenha certo caráter apolar (possui dois carbonos na

cadeia) e mesmo aumentando o seu teor acima de 40%, não foi possível obter maior rendimento de antioxidantes da fase oleosa da polpa de buriti.

O modelo para previsão de flavonoides, ao contrário da maioria dos modelos, apresentou efeito linear negativo para percentagem de etanol na solução extratora, indicando que o aumento da concentração de etanol causou a tendência da diminuição da extração de flavonoides por grama de polpa de buriti. Segundo Zhang et al., (2007), isso pode ser explicado pelo princípio geral da extração por solventes que indica que o solvente apenas extraiu os fitoquímicos similares a ele devido a formação de forças intermoleculares. Ainda, conforme Boeing et al., (2014), o etanol seria menos eficiente para a extração de compostos antioxidantes em comparação a outros solventes, mesmo se suas polaridades fossem similares, devido à baixa solvatação promovida por ele, provavelmente pela presença do radical etil que é maior do que radicais encontrados em outros solventes. Dessa forma o aumento de etanol pouco auxiliou na obtenção de maior quantidade de compostos flavonoides.

O modelo de previsão da capacidade antioxidante dos extratos avaliados pelo método FRAP também mostrou tendência diferente, com efeito linear positivo para percentagem de etanol na solução extratora. Para esse método o aumento da porcentagem de etanol beneficiou a extração de antioxidantes por grama de matriz, o que pode ter acontecido devido à maior solubilização dos compostos extraídos como mencionado anteriormente.

5.3.3 EFEITOS DA TEMPERATURA

Os modelos apresentaram, em sua maior parte, efeito linear negativo para a temperatura (x_3), ou seja, o aumento de temperatura causou diminuição da extração dos compostos. De acordo com Radojkovic et al., (2012) geralmente acima de 40°C, a maioria dos compostos tem seu rendimento diminuído devido provavelmente a sua degradação.

Para o modelo de previsão de carotenoides, porém, a temperatura apresentou efeito linear positivo, ou seja, houve aumento do teor de carotenoides com a elevação da temperatura. Segundo Sharmin et al., (2016), o aumento da temperatura até

determinado ponto promove maior eficiência da extração, pois o calor torna as paredes das células da matriz permeável, além de aumentar a solubilidade e a difusão dos compostos a serem extraídos e diminuir a viscosidade do solvente, facilitando sua passagem através da massa de substrato sólido. Strati e Oreopoulou (2011) também confirmam o aumento do rendimento de carotenoides com o aumento da temperatura, pois esta é capaz de aumentar a solubilidade e difusividade desses compostos.

Observa-se que o modelo para previsão da capacidade antioxidante dos extratos avaliados pelo método DPPH teve efeitos linear e quadrático negativos para a temperatura da extração de antioxidantes. Isso indicou que a capacidade de extração aumentou com a elevação da temperatura até cerca de 50°C (ponto central do delineamento para essa variável) e acima dessa temperatura a capacidade de extração tendeu a diminuir. O estudo de Hamid et al., (2002), mostrou que a capacidade antioxidante do extrato de diversas plantas é estável até 50°C.

5.3.4 EFEITOS DAS INTERAÇÕES

Os dois últimos termos do modelo DPPH estão relacionados à interação entre as variáveis independentes (x_1x_3 e x_2x_3). Devido ao efeito positivo em ambos os termos, quando a percentagem de polpa e a temperatura ou a percentagem de etanol e a temperatura foram aumentadas simultaneamente, o teor de antioxidante também aumentou, devido à relação entre essas variáveis ser sinérgica.

As interações sinérgicas são observadas quando o efeito produzido por uma combinação de variáveis é superior ao que se poderia esperar com base na contribuição individual. O termo sinergia provém da palavra grega *synergos*, que significa trabalhar em conjunto (CASANOVA; COSTA, 2017). Sendo assim, ainda que o efeito de uma variável isolada dificulte a extração de alguns compostos antioxidantes, a interação dela com outra variável pode causar efeito de melhora na extração desses compostos devido ao sinergismo.

5.4 ANÁLISES DE VARIÂNCIA E DE REGRESSÃO

Nas tabelas 8 a 13 são apresentados os valores utilizados nas análises de variância (ANOVA) referentes aos modelos ajustados mostrados na Tabela 7..

Tabela 6. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de fenólicos totais.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado (5%)	p
Regressão	29815,37	5	5963,07	24,16	3,03	0,000004
Resíduo	3209,15	13	246,86			
Total	33024,52	18				
Falta de ajuste	2352,97	9	261,44	1,22	6,00	0,455431
Erro puro	856,18	4	214,05			

Tabela 7. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de flavonoides.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado (5%)	p
Regressão	1338,58	4	334,65	13,13	3,11	0,0001
Resíduo	356,79	14	25,48			
Total	1695,37	18				
Falta de ajuste	321,13	10	32,11	3,60	5,96	0,1141
Erro puro	35,66	4	8,91			

Tabela 8. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de carotenoides.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado (5%)	p
Regressão	5,98	5	1,20	28,76	3,03	0,000001
Resíduo	0,54	13	0,04			
Total	6,52	18				
Falta de ajuste	0,28	9	0,03	0,48	6,00	0,836097
Erro puro	0,26	4	0,07			

Tabela 9. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de antioxidantes pelo método DPPH.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado (5%)	p
Regressão	10,05	8	1,26	20,50	3,07	0,000030
Resíduo	0,61	10	0,06			
Total	10,66	18				
Falta de ajuste	0,55	6	0,09	5,76	6,16	0,055924
Erro puro	0,06	4	0,02			

Tabela 10. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de antioxidantes pelo método ABTS.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado (5%)	p
Regressão	116,99	5	23,39	18,23	3,03	0,000018
Resíduo	16,68	13	1,28			
Total	133,68	18				
Falta de ajuste	15,44	9	1,72	5,54	5,99	0,057133
Erro puro	1,24	4	0,31			

Tabela 11. ANOVA do modelo ajustado para a capacidade de extração de antioxidantes pelo método FRAP.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado (5%)	p
Regressão	66,72	4	16,68	31,48	3,11	$1,00 \times 10^{-6}$
Resíduo	7,42	14	0,53			
Total	74,13	18				
Falta de ajuste	6,50	10	0,65	2,82	5,96	$1,6 \times 10^{-1}$
Erro puro	0,92	4	0,23			

De acordo com a análise de variância, os modelos matemáticos foram significativos para prever a capacidade de extração de compostos bioativos e antioxidantes dos extratos da polpa de buriti ($p < 0,05$) e não apresentaram falta de ajuste significativa ($p > 0,05$).

A Tabela 12 a seguir apresenta os coeficientes de determinação (R^2) e coeficiente de determinação ajustado (R^2_{ajustado}) para os modelos matemáticos obtidos.

Tabela 12. Análise de regressão dos modelos matemáticos ajustados de previsão do teor dos compostos bioativos e capacidade antioxidante dos extratos da polpa de buriti.

Métodos analíticos	R² (%)	R² ajustado (%)
Fenólicos Totais	90,28	86,54
Flavonoides	78,95	72,94
Carotenoides	91,71	88,52
DPPH	94,25	89,65
ABTS	87,52	82,72
FRAP	89,99	87,13

A partir da análise de regressão, observou-se que os modelos ajustados para previsão do teor de fenólicos totais, carotenoides e antioxidantes avaliados pelo método DPPH foram estatisticamente significativos. O modelo de previsão de flavonoides apresentou baixa significância o que pode ter sido causado por erros experimentais durante a determinação analítica desse composto.

5.5 GRÁFICOS DE CONTORNO

5.5.1 CONDIÇÕES PARA FENÓLICOS TOTAIS

As Figuras 15, 16 e 17 apresentam respectivamente as relações entre a percentagem de etanol e percentagem de polpa de buriti, temperatura e percentagem de polpa e temperatura e percentagem de etanol para a obtenção dos teores de fenólicos totais.

Como se observa nos gráficos de contorno com eixos codificados, para obter o maior teor possível desse composto, foi requerida a menor percentagem de polpa de buriti (mínimo de 5% no delineamento experimental) enquanto a percentagem de etanol estava na faixa entre 40% e 55%. Foi requerida também a menor percentagem de polpa de buriti enquanto a temperatura se encontrou na faixa entre 30°C e 38°C. Finalmente, foi requerida a menor temperatura possível (mínimo de 30°C) enquanto a percentagem de etanol se encontrou na faixa entre 40% e 55%.

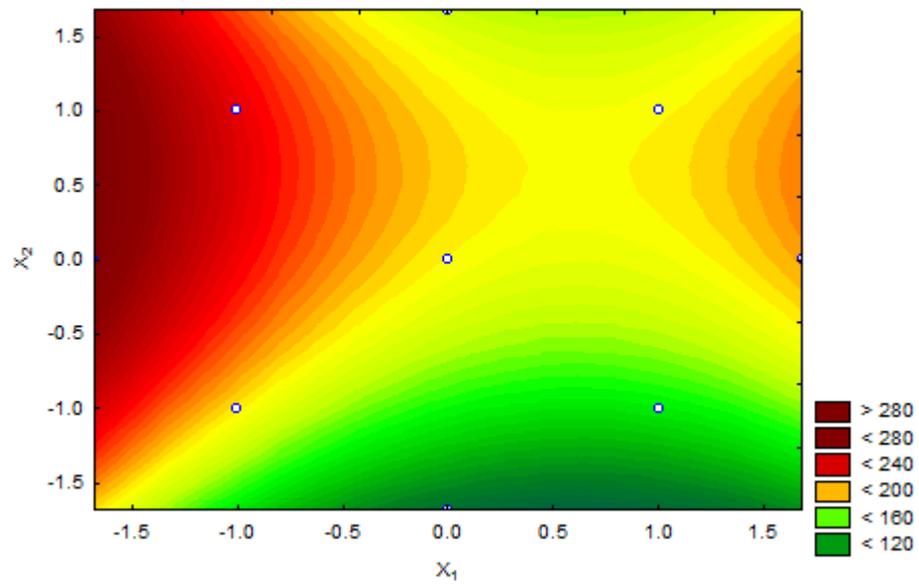


Figura 15. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e de percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de fenólicos totais.

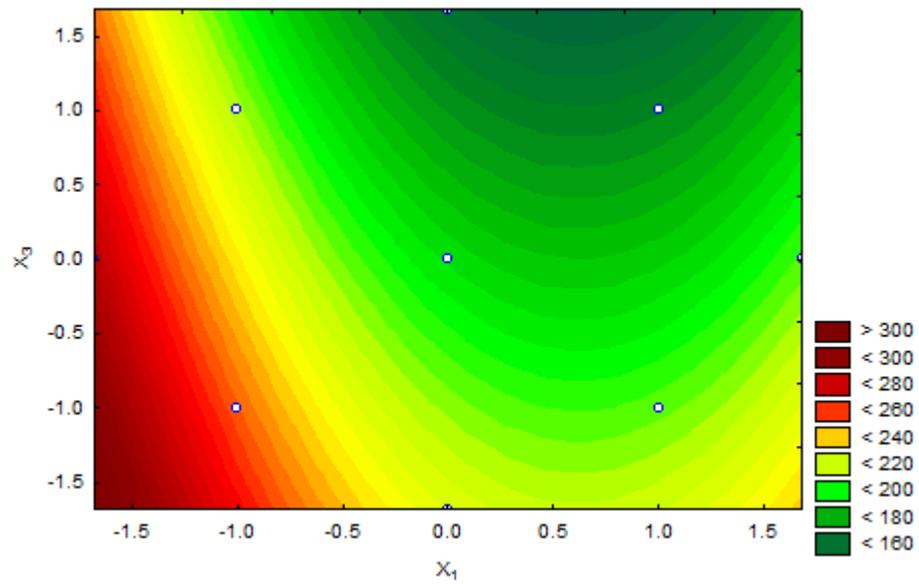


Figura 16. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de fenólicos totais.

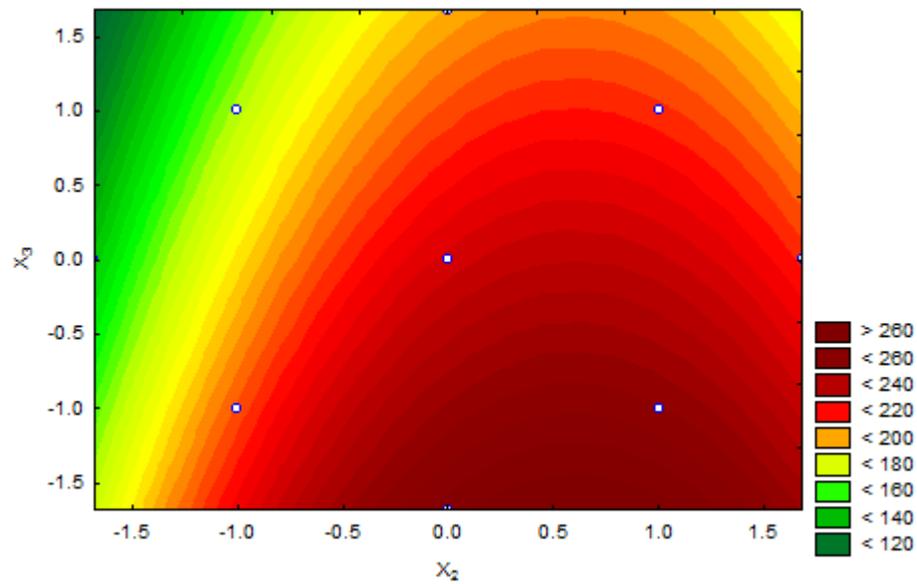


Figura 17. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e percentagem de etanol com efeito sobre o teor de fenólicos totais.

5.5.2 CONDIÇÕES PARA FLAVONOIDES

Como pode ser observado nas Figuras 18, 19, e 20, os maiores teores de flavonoides foram obtidos respectivamente com: a menor percentagem de polpa de buriti enquanto a percentagem de etanol se encontrou na faixa entre 15% e 25%; a menor percentagem de polpa de buriti enquanto a temperatura se encontrou na faixa entre 30°C e 38°C e a menor temperatura enquanto a percentagem de etanol estava a um máximo de 15%.

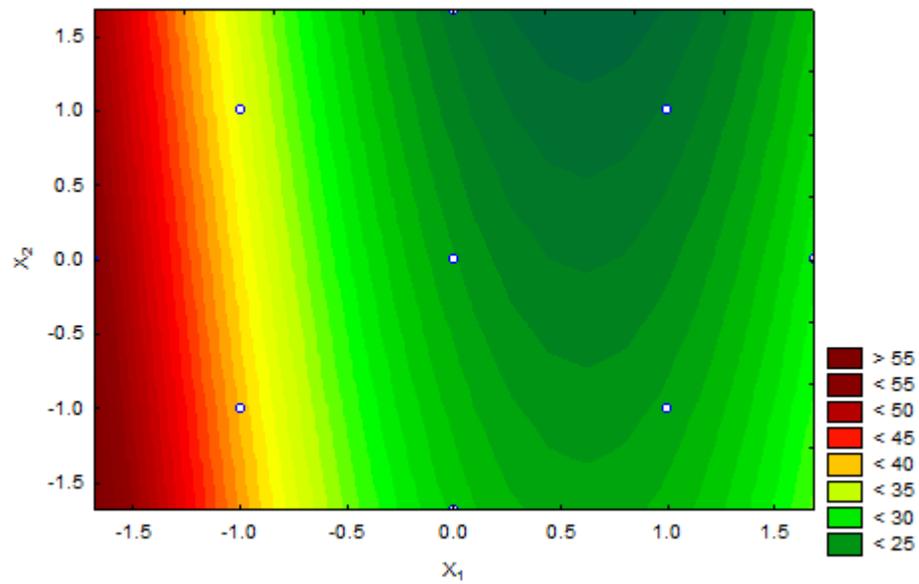


Figura 18. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e de percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de flavonoides.

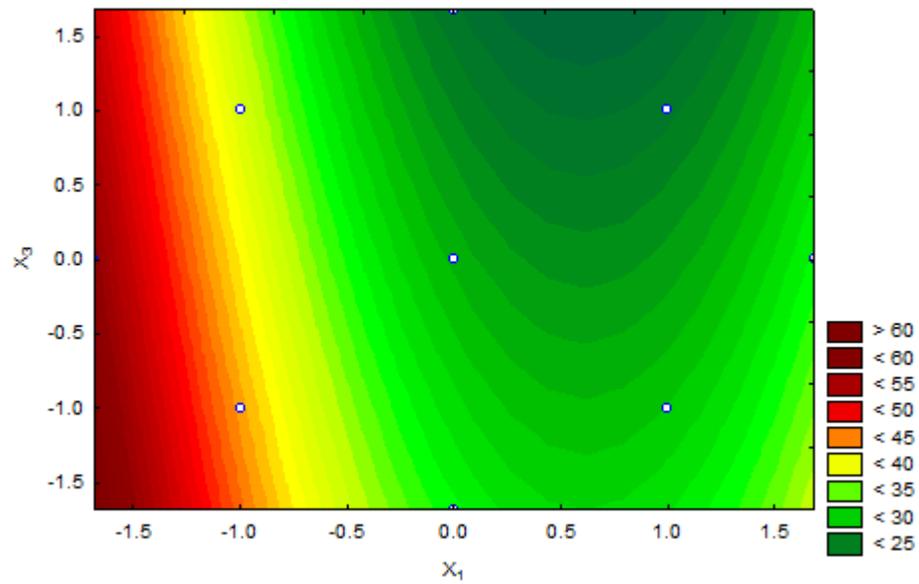


Figura 19. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e de percentagem de polpa de buriti com efeito sobre o teor de flavonoides.

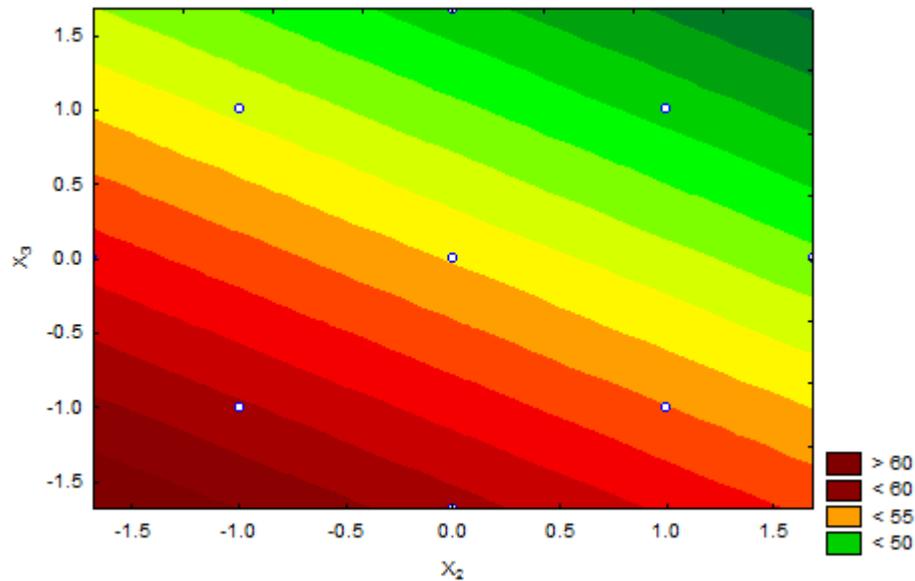


Figura 20. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e de porcentagem de etanol com efeito sobre o teor de flavonoides.

5.5.3 CONDIÇÕES PARA CAROTENOIDES

As Figuras 21, 22 e 23 mostram as relações das variáveis independentes como efeitos sobre o teor de carotenoides. Observando as figuras, foi possível notar que quanto maior a porcentagem de polpa de buriti (máximo de 20%) enquanto a porcentagem de etanol se encontrou na faixa entre 55% e 65%, maior foi o teor de carotenoides extraídos. Quanto maior a porcentagem de polpa de buriti enquanto a temperatura se encontrou a um máximo de 70°C, maior foi o teor de extração desse composto. E ainda, quanto maior a temperatura enquanto a porcentagem de etanol se encontrou na faixa entre 55% e 65%, maior foi a extração de carotenoides.

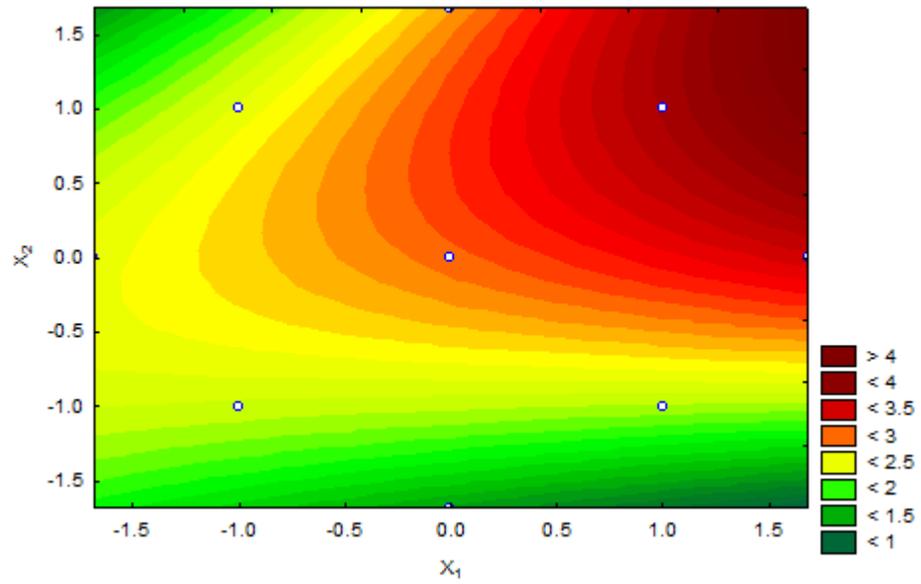


Figura 21. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e percentagem de polpa de buriti como efeito sobre o teor de carotenoides.

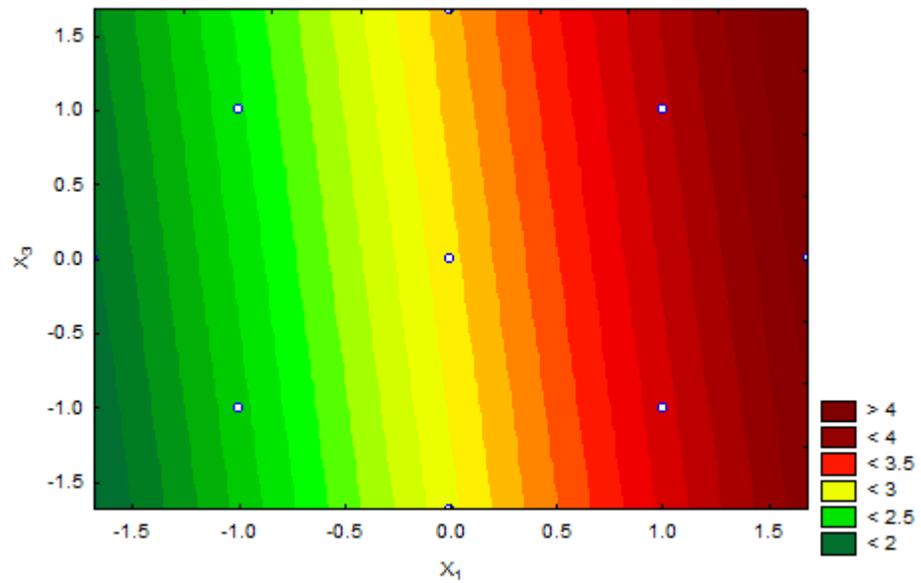


Figura 22. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de polpa de buriti como efeito sobre o teor de carotenoides.

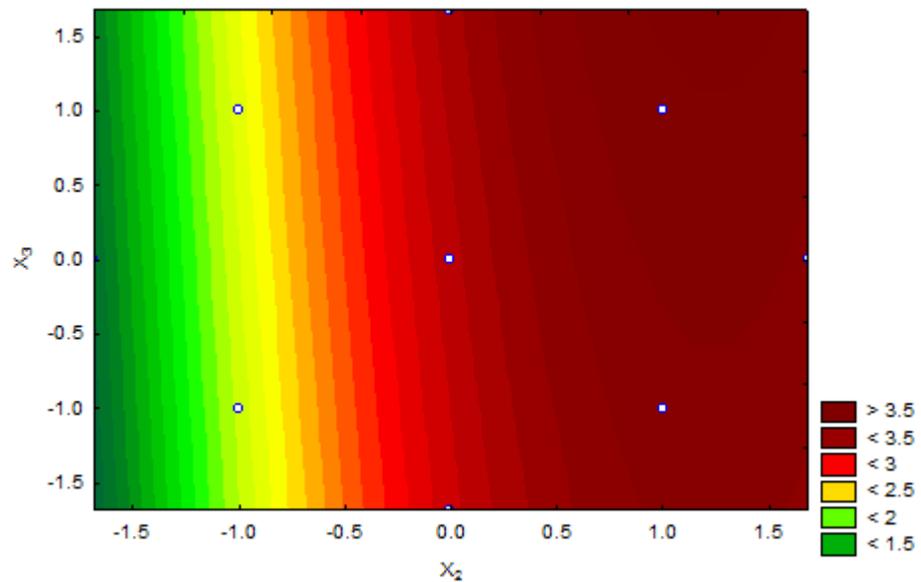


Figura 23. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de etanol como efeito sobre o teor de carotenoides.

5.5.4 CONDIÇÕES PARA ANTIOXIDANTES (MÉTODO DPPH)

As relações entre a temperatura e a percentagem de polpa de buriti, percentagem de etanol e percentagem de polpa e temperatura e percentagem de etanol para obtenção do teor de antioxidantes avaliados pelo método DPPH são apresentadas nas figuras 24, 25 e 26, respectivamente.

Para a obtenção do maior teor de antioxidantes por meio desse método, foi requerida a menor percentagem de polpa de buriti enquanto a temperatura se encontrou na faixa entre 30°C e 50°C. Foi necessário trabalhar com a menor percentagem de polpa de buriti enquanto a percentagem de etanol se encontrou na faixa entre 25% e 55%. Foi preciso ainda da menor temperatura possível enquanto a percentagem de etanol se encontrou na faixa entre 25% e 55%.

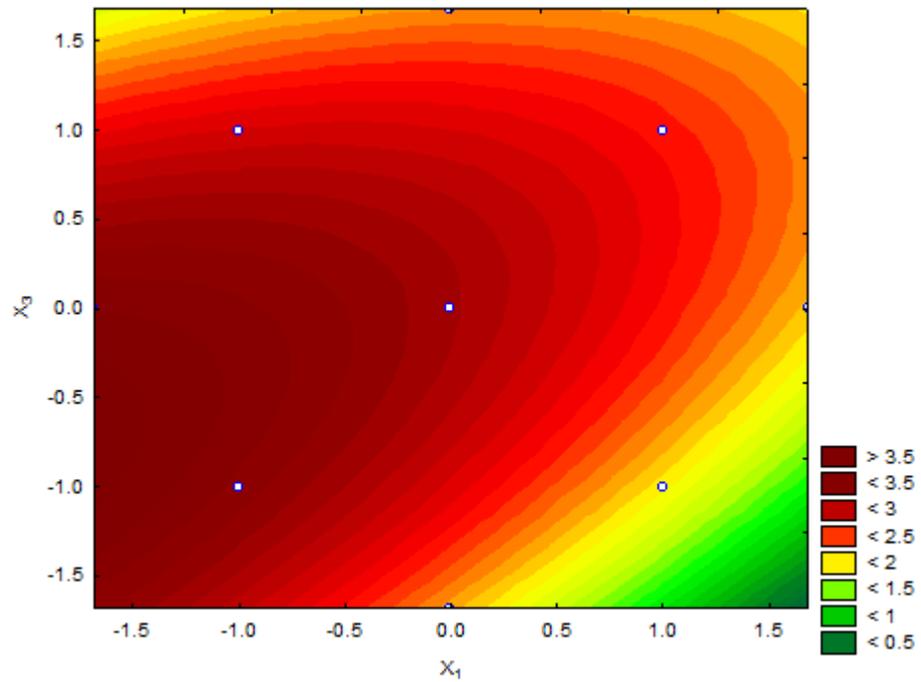


Figura 24. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método DPPH.

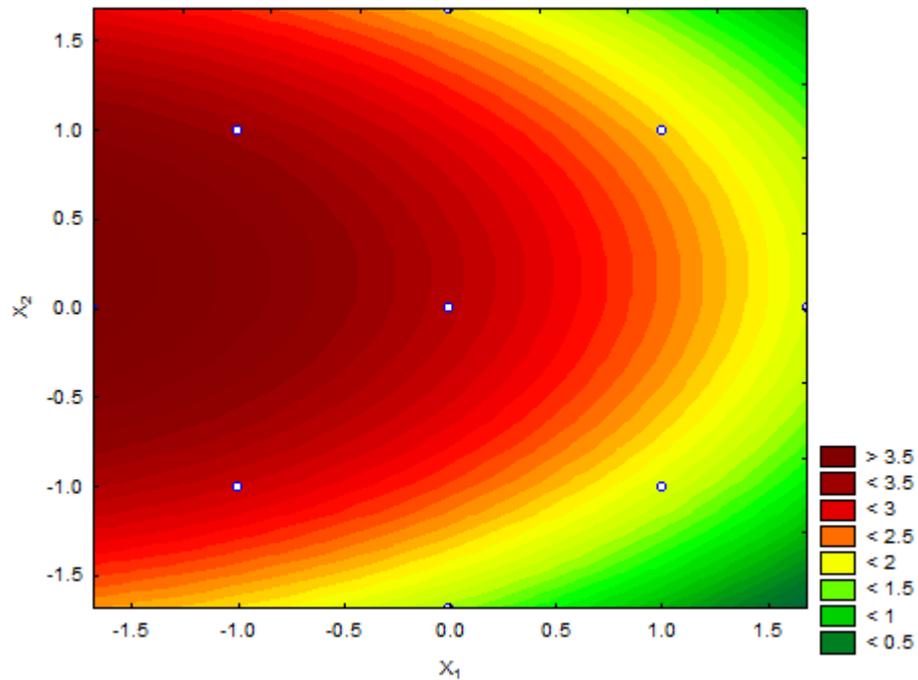


Figura 25. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método DPPH.

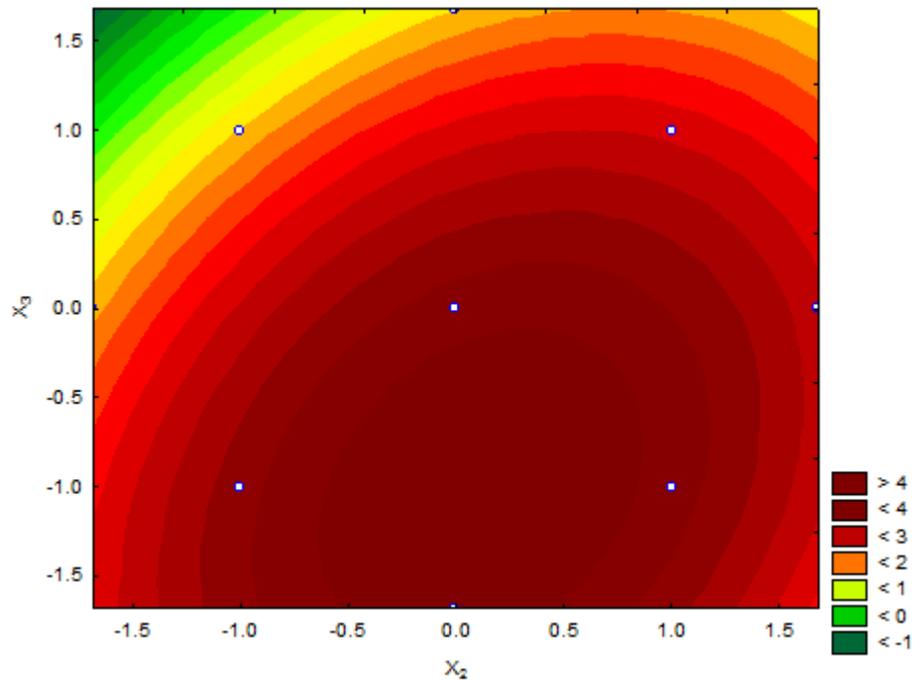


Figura 26. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de etanol como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método DPPH.

5.5.5 CONDIÇÕES PARA ANTIOXIDANTES (MÉTODO ABTS)

Nas Figuras 27, 28, e 29 se apresentam as relações entre as variáveis independentes para a obtenção do teor de antioxidantes avaliados pelo método ABTS. Quanto menor a percentagem de polpa de buriti quando a temperatura se encontrou entre 30°C e 38°C, maior foi o teor de antioxidantes obtido. Igualmente, quanto menor a percentagem de polpa de buriti enquanto a percentagem de etanol se encontrou na faixa entre 40% e 65%, maior foi o teor de antioxidantes obtido. Por fim, o teor de antioxidantes aumentou, quando a temperatura foi a menor possível enquanto a percentagem de etanol se encontrou na faixa entre 40% e 65%.

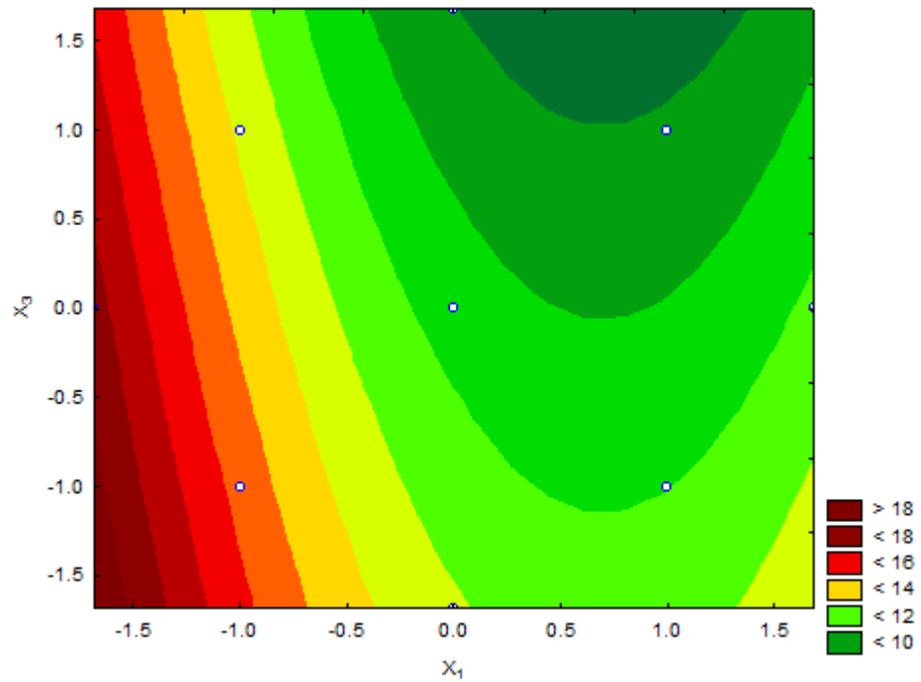


Figura 27. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método ABTS.

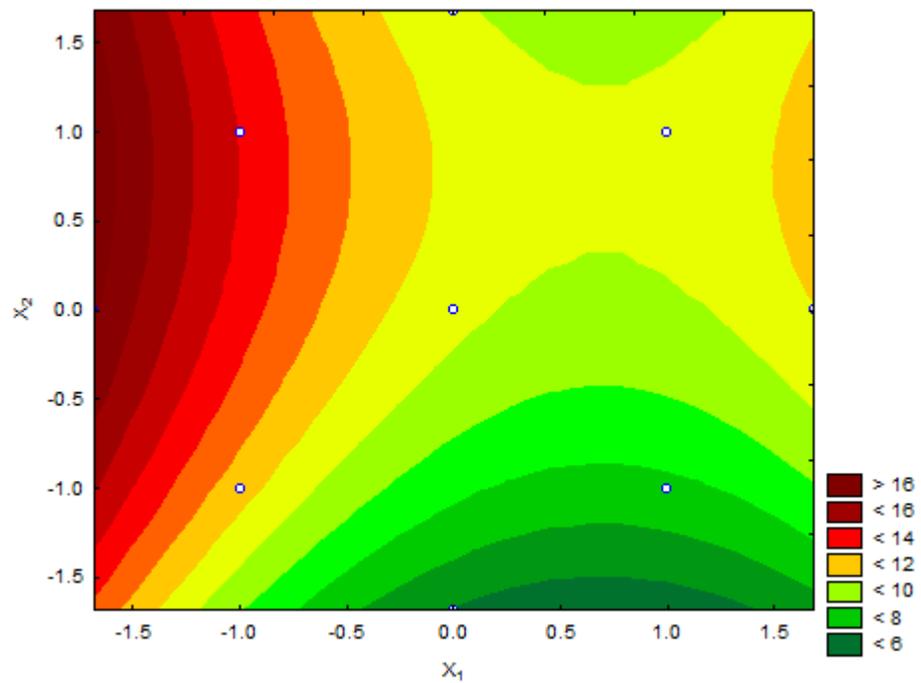


Figura 28. Gráfico de contorno da relação entre a percentagem de etanol e a percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método ABTS.

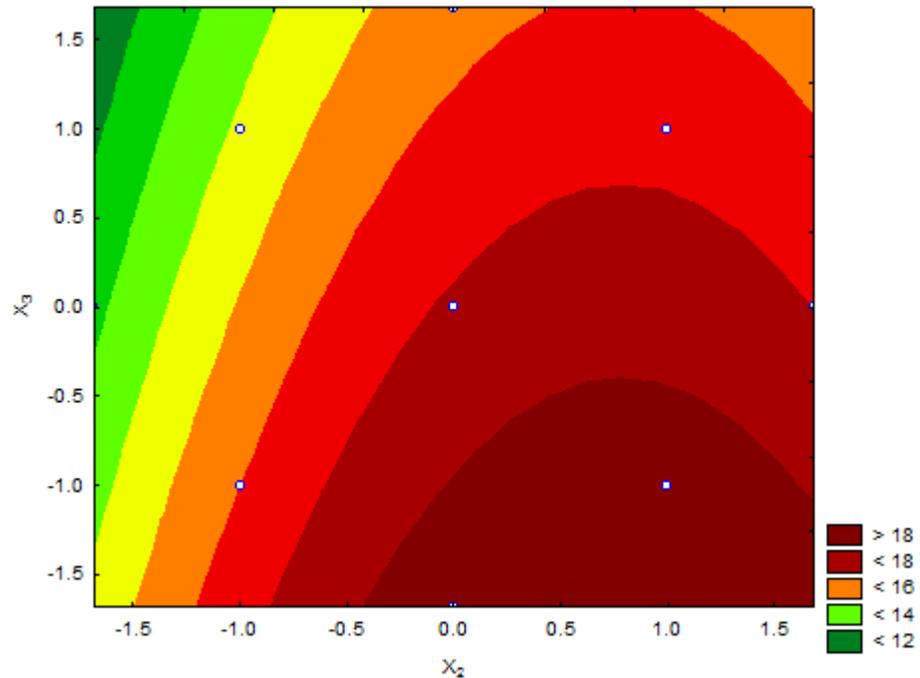


Figura 29. Gráfico de contorno da relação entre a temperatura e a percentagem de etanol como efeito sobre a capacidade da extração de antioxidantes avaliada pelo método ABTS.

5.5.6 CONDIÇÕES PARA ANTIOXIDANTES (MÉTODO FRAP)

As relações entre as variáveis independentes para a obtenção de antioxidantes avaliados pelo método FRAP são apresentadas pelas figuras 30, 31, e 32. Para obter o maior teor de antioxidantes possível, combinou-se a menor percentagem de polpa de buriti com a percentagem de etanol que se encontrou na faixa entre 55% e 65%. Combinou-se ainda a menor percentagem de polpa de buriti do delineamento com a temperatura em uma faixa entre 30°C e 38°C. Combinou-se também a menor temperatura possível enquanto a percentagem de etanol foi a maior possível (máximo de 65%).

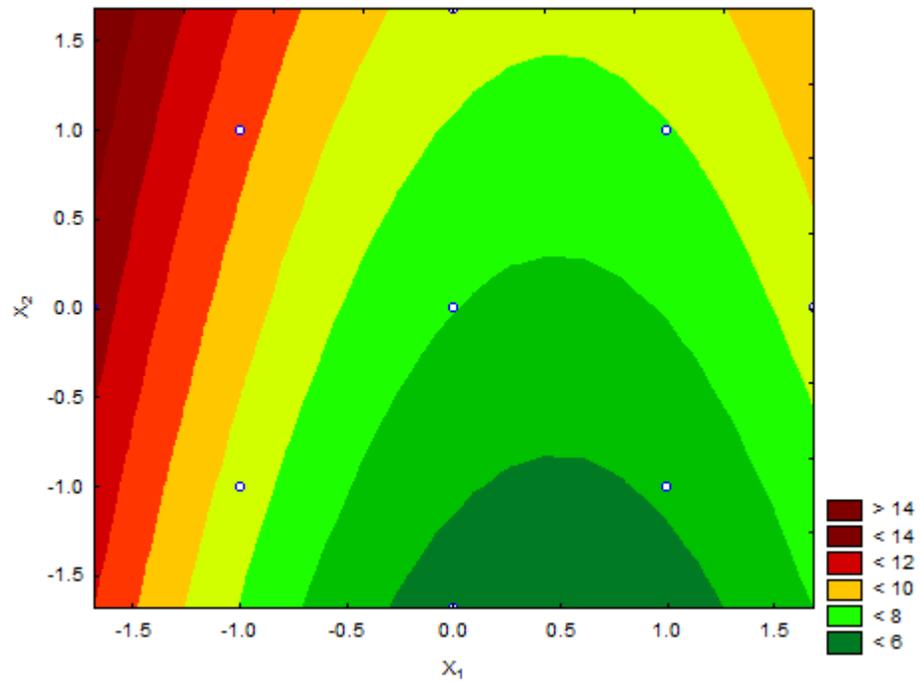


Figura 30. Gráfico de contorno da relação entre percentagem de etanol e de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade antioxidante pelo método FRAP.

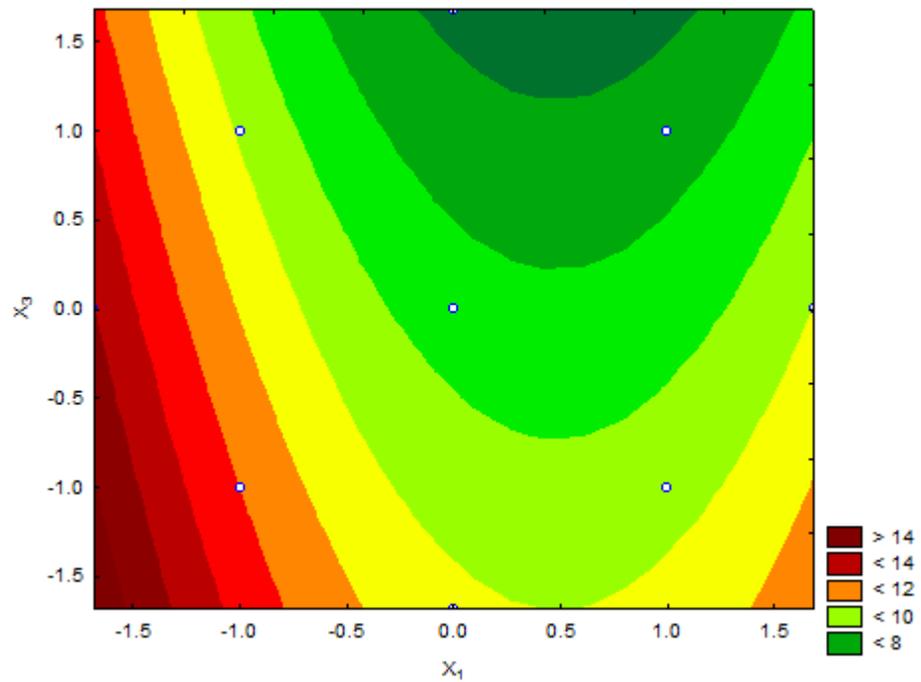


Figura 31. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de polpa de buriti como efeito sobre a capacidade antioxidante pelo método FRAP.

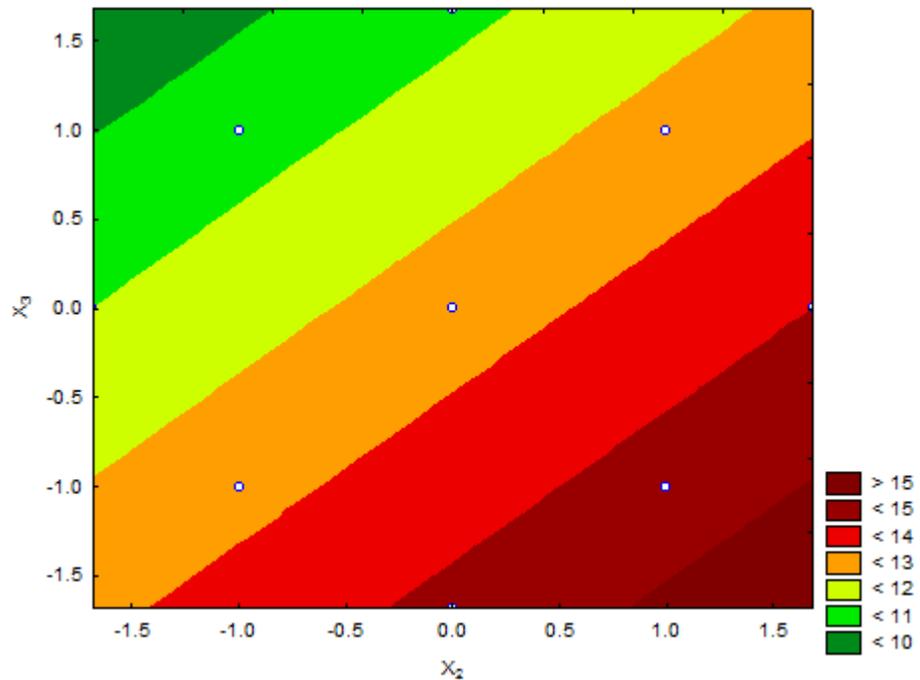


Figura 32. Gráfico de contorno da relação entre temperatura e percentagem de etanol como efeito sobre a capacidade antioxidante pelo método FRAP.

5.6 ANÁLISE DAS REGIÕES ÓTIMAS

As regiões nas quais foram encontradas as melhores condições de extração para a obtenção de um extrato com resposta maximizada foram diferenciadas para carotenoides e o restante dos compostos analisados.

Os carotenoides totais mostraram tendência a serem melhores extraídos com uma percentagem de polpa de buriti próxima a 20%, percentagens intermediárias de etanol e temperaturas próximas a 70°C. Por outro lado, todos os outros compostos apresentaram melhor capacidade de extração com percentagens de 5% de polpa de buriti, percentagens intermediárias de etanol e temperaturas próximas a 30°C.

Essa diferença, como mencionado anteriormente por Strati e Oreopoulou (2011), pode ter ocorrido devido à estrutura dos compostos carotenoides que com o aumento do teor de sólidos e da temperatura se tornaram mais solúveis e tiveram sua difusividade aumentada.

6. CONCLUSÃO

Verificou-se que houve eficiência nas extrações, pois as determinações analíticas de todos os extratos apresentaram respostas de compostos antioxidantes. Tendo em vista essas respostas, pode-se confirmar ainda a importância do buriti como fonte de compostos antioxidantes.

Os modelos matemáticos ajustados foram estatisticamente significativos e necessários para a projeção de gráficos de contorno que permitiram a análise de regiões ótimas. As regiões nas quais foram encontradas as melhores condições de extração para a obtenção de um extrato com resposta maximizada foram diferenciadas para carotenoides e o restante dos compostos analisados possivelmente devido às diferenças de sua estrutura química e resistência à temperatura.

Enquanto os compostos carotenoides exigiram percentagem de polpa de buriti a um máximo de 20%, percentagens intermediárias de etanol e temperaturas por volta de 70°C, todos os outros compostos exigiram percentagem de polpa a um mínimo de 5%, percentagens intermediárias de etanol e temperaturas por volta de 30°C.

A metodologia de superfície de resposta com base no delineamento composto central rotacional se mostrou adequada para descrever a extração dos compostos antioxidantes em região ótima.

Os resultados da análise das regiões ótimas para a extração de compostos antioxidantes da polpa de buriti serão utilizados em um trabalho futuro sobre otimização em que será usado o algoritmo de enxame de partículas capaz de determinar um ponto ótimo com a melhor condição de extração.

7. REFERÊNCIAS

ABASCAL, K.; GANORA, L.; YARNELL, E. The effect of freeze-drying and its implications for botanical medicine: a review. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 1, p. 655-660, 2005.

AGOSTINI-COSTA, T.; VIEIRA, R. F. **Frutas nativas do cerrado: qualidade nutricional e sabor peculiar.** 2004. Disponível em: <<http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=./biotecnologia/index.html>>. Acesso em: 7 de novembro de 2017.

AIZAWA, K.; INAKUMA, T. Quantitation of carotenoids in commonly consumed vegetables in Japan. **Food Science and Technology Research**, v. 13, n. 3, p. 247-252, 2007.

ALMEIDA, J. M. D.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

ANDRADE, R. A. M. S.; MELO, E. A.; SANTOS, A. M. P.; TAIGRA, S. Otimização do processo de extração de polifenóis a partir do resíduo agroindustrial de caju. **Anais do Simpósio Brasileiro de Compostos Bioativos**, v. 1, n. 1, p. 48-75, 2014.

ANNEGOWDA, H. V.; BHAT, R.; TZE, L. M.; KARIM, A. A.; MANSOR, S. M. The free radical scavenging and antioxidant activities of pod and seed extract of *Clitoria fairchidiana* (Howard) – an underutilized legume. **Journal of Food Science Technology**, v. 50 n. 3 p. 535-541, 2013.

ARNAO, M.; CANO, A.; ACOSTA, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 239–244, 2001.

ASLAN, S. Application of response surface methodology and central composite rotatable design for modeling and optimization of multi-gravity separator for chromite concentration. **Powder Technology**, v. 185, n. 1 p. 80-86, 2008.

BARBERÁN, T. F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 9, p. 853-876, 2001.

BARROS, B.C.V. Elaboração de biscoito de farinha de buriti (*Mauritia flexuosa L. f*) com e sem adição de aveia (*Avena sativa L.*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 1, p. 262-273, 2011.

BELLOMO, N.; ANGELIS, E. DELITALA, M. **Lecture notes on mathematical modelling in applied sciences**. Torino, 2007. 168 p.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–6, 1996.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BIEHLER, E.; MAYER, F.; HOFFMANN, L.; KRAUSE, E.; BOHN, T. Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. **Journal of food Science**, v. 75, n. 1, p. 55-61, 2010.

BIJU, J.; SULAIMAN C. T.; SATHEESH, G.; REDDY, V. R. K. Total phenolics and flavonoids in selected medicinal plants from Kerala. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6 n. 1 p. 406-408, 2014.

BLACKADDER, D. A.; NEDDERMAN, R. M. **Manual de operações unitárias**. Cambridge: Hemus, 2004. 276 p.

BOEING, J. S.; BARIZÃO, E. O.; SILVA, B. C.; MONTANHER, P. F.; ALMEIDA, V. C.; VISENTAINER, J. V. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 1 p. 1 - 48 , 2014.

BOX, G. E. P & HUNTER, J. S. Multifactor experimental designs for exploring response surfaces. **Annals of Mathematical Statistics**, v. 28, n. 1, p. 195-241, 1957.

BRADLEY, N. **The response surface methodology**. 2007. 63f. Thesis (Master degree in Applied Mathematics and Computer Science) – Indiana University of South Bend, South Bend. 2007.

BUTNARIU, M. Methods of analysis (extraction, separation, identification and qualification) of carotenoids from natural products. **Journal of Ecosystem and Ecography**, v. 6, n. 2, p. 2-19, 2016.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa L. f.*) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, n. 1, p. 313-319, 2015.

CARNEIRO, T. B.; CARNEIRO, J. G. M. Frutos e polpa desidratada Buriti (*Mauritia flexuosa L.*): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. **Revista Verde**, v.6, n.2, p.105-111, 2011.

CARVALHO, L. M. J.; GOMES, P. B.; GODOY, R. L. O.; PAHECO, S. MONTE, P. H. F.; CARVALHO, J. L. V.; NUTTI, M. R.; NEVES, A. C. L.; VIEIRA, A. C. R. A. V.; RAMOS, S. R. R. Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins

(*Cucurbita moschata* Duch): A preliminar study. **Food Research International**, v. 47, n. 1, p. 337-340, 2012.

CASANOVA, L. M.; COSTA, S. S. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 575-595, 2017.

CHEW, K. K.; NG, S. Y.; THOO, Y. Y.; KHOO, M. Z.; WANAIIDA, W. M.; HO, C. W. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. **International Food Research Journal**, v. 18 n.1 p. 571-578, 2011.

COSTA, S. R. **Série boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável orgânico Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.)**. Brasília - DF: [s.n.], 2012.

CUNHA, F. 2011. *Mauritia flexuosa*. Disponível em: <http://palmpedia.net/wiki/index.php/Mauritia_flexuosa>. Acesso em: 1 de novembro de 2017.

CURRIE, L.A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities. **Pure Applied Chemistry**, v. 67, p. 1699-1723, 1995.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 1, p. 7313-7352, 2010.

DARNET, S. H.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C.; LINS, R.T. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.2, p.488-491, 2011.

DELGADO, C.; COUTURIER, G.; MEJIA, K. *Mauritia flexuosa* (Arecaceae: Calamoideae), an amazonian palm with cultivation purposes in Peru. **Fruits**, v. 62, n. 3, p.157–169. 2007.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. Buri *Mauritia flexuosa* L. f. Arecaceae. In: **Frutas brasileiras**. 2 ed. Jaboticabal: Novos Tempos, 2004. p. 84-87.

ESCRIBANO-BAILÓN, M. T., & SANTOS-BUELGA, C. **Polyphenols extraction from foods**. In Williamson, G.; Santos-Buelga, C. *Methods in polyphenol analysis*, Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2003. p. 1-16.

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. A thorough study of reactivity of various compound classes towards the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 14, p. 8139-8144, 2010.

FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSEN, L. B. **Princípio das operações unitárias**. Rio de Janeiro: LTC, 1982. 670 p.

GRIZOTTO, R. K.; BRUNS, R. E.; AGUIRRE, J. M.; BATISTA, G. Otimização via metodologia de superfície de respostas dos parâmetros tecnológicos para produção de fruta estruturada e desidratada a partir de polpa concentrada de mamão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 158-64, 2005.

HAMID, A. A.; SHAH, Z. M. D.; MUSE, R.; MOHAMED, S. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L) Urban. **Food Chemistry**, v. 77, n. 4, p. 465-569, 2002.

HARBORNE, J. B.; SIMMONDS, N. W. **Biochemistry of Phenolic Compounds**, Academic Press: London, pp 101,1964.

HORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19 ed. Maryland: AOAC International, 2012.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Rio de Janeiro: Inmetro, 2010.

JEYANTHI, R. L.; SHARMILA, S.; DAS, M. P.; SESHIAH, C. Extraction and purification of carotenoids from vegetables. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 4, p. 594-598, 2014.

KENNEDY, J.; EBERHART, R. C. **Particle swarm optimization**. Proceedings of IEEE International Conference on Neural Networks, Piscataway, NJ. p.1942-1948, 1995.

KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; GOZZO, F. C.; SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L. Antioxidant , antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L . f .) by UPLC – ESI - MS / MS. **Food Research International**, v. 51, p. 467–473, 2013.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.;FILHO, J. M.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LOPEZ, E. 2016. *Mauritia flexuosa*. Disponível em: <http://palmpedia.net/wiki/index.php/Mauritia_flexuosa>. Acesso em: 1 de novembro de 2017.

MACHADO, G. L.; SOARES, O. D. Influência de uma alimentação saudável para longevidade e prevenção de doenças. **Interciência e Sociedade**, v. 3, n. 2, p. 60-67, 2014.

MANHÃES, L.R.T. **Caracterização da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*, Mart.): um potente alimento funcional**. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007. 78p. Dissertação Mestrado.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASSOVA, M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 40, n. 3, p. 255-260, 2005.

MATEUS, N. B.; BARBIN, D.; CONAGIN, A. Viabilidade de uso do delineamento composto central. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 6, p. 1537 – 1546, 2001.

MELO, W. S.; PENA, R. S.; RODRIGUES, A. M. C.; SILVA, L. H. M. Hygroscopic behavior of buriti (*Mauriti flexuosa*) fruit. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 935-940, 2011.

MENDONÇA, L. A. **Desempenho do delineamento composto central em experimentos com alto coeficiente de variação**. 2012. 68f. Dissertação (Mestrado em Estatística Aplicada e Biometria) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2012.

MIGLIATO, K. F.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) skeels. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 695-699, 2011.

MORALES-GONZÁLEZ, A. J. **Oxidative stress and chronic degenerative diseases – A role for antioxidants**. Mexico City: Intech, 2013. 122p.

MORTENSEN, A. Carotenoids and other pigments as natural colorants*. **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 8, p.1477-1491, 2006.

NELLIS, S. C.; CORREIA, A. F. K.; SPOTO, M. H. F. Extração e quantificação de carotenoides em minitomate desidratado (Sweet Grape) através da aplicação de diferentes solventes. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. 1, p. 1-5, 2017.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2010. 414p.

NORSHAZILA, S.; KOY, C. N.; RASHIDI, O.; HO, L. H.; AZRINA, I.; NURUL, Z. R. A.; ZARINAH, Z. The Effect of Time, Temperature and Solid to Solvent Ratio on Pumpkin Carotenoids Extracted Using Food Grade Solvents. **Sains Malaysiana**, v. 46, n. 2, p. 231-237, 2017.

OEHLERT, G. W. **A first course in design and analysis of experiments**. 1 ed. Freeman & Company, W. H, 2000.

PASINI, F.; OLIVEIRA, D. 2015 Manual de boas práticas de produção de buriti. Disponível em: <<https://pt.slideshare.net/naturacampus/manual-de-boas-prticas-de-produo-de-buriti>>. Acesso em: 1 de novembro de 2017.

PEIXOTO, T. J. S.; GOMES, T.L.B.; CARDOSO, K.C.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia L.*) comercializados em farmácias de Recife/PE. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.4, p.586-591, 2012.

PERÁZIO, B. A. A. **Efeitos dos pontos axiais e centrais sobre a eficiencia do delineamento composto central**. 2010. 57f. Dissertação (Mestrado em Estatística Aplicada e Biometria) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2010.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, L. Carotenoids in evolutionary ecology: reevaluating the antioxidant role. **BioEssays**, v. 31, n. 1, p. 1116-1126, 2009.

PRIOR R, WU X, SCHAICH K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 1 p. 4290-4302, 2005.

RADOJKOVIC, M.; ZEKOVIC, Z.; JOKIC, S.; VIDOVIC, S.; LEPOJEVIC, Z.; MILOSEVIC, S. Optimization of solid-liquid extraction of antioxidants from black

mulberry leaves by response surface methodology. **Food Technology and Biotechnology**, v. 50, n. 2, p. 167-176, 2012.

RE, R.; PELEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C.. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RIZZI, M. FURTADO, J. C.; COSTA, A. B.; GERBASE, A. E.; FERRÃO, M. F. Método do enxame de partículas para otimização de modelos de regressão empregados na determinação de biodiesel em blendas/óleo vegetal/diesel. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1877-1892, 2016.

ROBARDS, R.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review. **Analyst – Royal Society of Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 11-34, 1997.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, n. 3, p. 38-47, 1999.

RODRIGUES-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos Brasília: MMA/SBF, 2008. 100 p.**

ROESLER, R.; CATHARINO, R. R.; MALTA, L. G.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: Characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 104 p. 1048-1054, 2007.

ROMERO, A. B. R.; MARTINS, M. C. C.; NUNES, P. H. M.; FERREIRA, N. R. T.; BRITO, A. K. S.; CUNHA, P. F. M.; LIMA, A.; ASSIS, R. C.; ARAÚJO, E. M. *In vitro* and *in vivo* antioxidante activity of Buriti fruit (*Mauritia flexuosa L. f.*). **Nutrición Hospitalaria**, v. 32, n. 5, p. 2153-2161, 2015.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.;

JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{•+}. **Comunicado Técnico EMBRAPA**, p. 1679-6535, 2007.

SAMPAIO, M. B.; SCHMIDT, I. B.; FIGUEIREDO, I. B.; SANO, P. T. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do capim dourado e buriti** – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 72 p.

SANTOS, C.A.; RIBEIRO, R.C.; SILVA, V.C.; SILVA, N.S.; SILVA, B.A.; SILVA, G. F.; KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, n.1, p. 1-16, 2013.

SAS. Concepts of experimental design, 2005. SAS and all other SAS Institute Inc Disponível em: <<https://support.sas.com/resources/papers/sixsigma1.pdf>> Acesso em: 8 de novembro de 2017.

SERAPIÃO, A. B. S. Fundamentos de otimização por inteligência de enxames: uma visão geral. **Revista Controle e Automação**, v. 20, n. 3, p. 271-304, 2009.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém: CIFOR/IMAZON, 2005. 300 p.

SAMPAIO, M. B.; CARAZZA, L. R. **Manual tecnológico de aproveitamento integral do fruto e da folha do buriti (*Maurita flexuosa*)**. Brasília - DF: 2012.

SHABIR, G. A. Step-by-step analytical methods validation and protocol in the quality system compliance industry. **Institute of Validation Technology**, v. 10, n. 1, p. 314-324, 2004.

SHARMIN, T.; AHMED, N.; HOSSAIN, A.; HOSAIN, M. M.; MONDAL, S. C.; HAQUE, M. R.; ALMAS, M.; SIDDIK, A. B. Extraction of bioactive compounds from some fruits and

vegetables (pomegranate peel, carrot and tomato). **American Journal of Food and Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 8-19, 2016.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

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

SOUSA, P. B.; SILVA, E. F.; MONÇÃO, E. C.; SILVA, J. N.; SILVA, M. J. M.; SOUSA, M. M. **Fenólicos totais, carotenóides e capacidade antioxidante de raspas de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) in natura comercializadas em Teresina-Piauí**. Teresina - PI: 2008.

SOUZA-SARTORI, J. A.; SCALISE, C. BAPTISTA, A. S.; LIMA, R.B.; AGUIAR, C. L. Parâmetros de influencia na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 2, p. 297-307, 2013.

SULAIMAN, C. T.; BALACHANDRAN, I. Total phenolics and total flavonoids in selected Indian medicinal plants. **Indian Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n. 3, p. 258-260, 2012.

SULAIMAN. C. T.; SADASHIVA. C. T.; SATHEESH. G.; GOPLAKRISHNAN, V. K.; INDIRA, B. Chromatographic studies and in vitro screening for acetyl cholinesterase inhibition and antioxidant activity of three acacia species from South India. **Analytical Chemistry Letters**, v. 3, n. 2, p. 111-118, 2013.

SULTANA, B.; ANWAR, F.; ASHRAF, M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidante activity of selected medicinal plant extracts. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 2167-

2180, 2009.

SPAGOLLA, L. C.; SANTOS, M. M.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C. L. Extração alcóolica de fenólicos e flavonoides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 187-191, 2009.

STRATI, I. F.; OREOPOULOU, V. Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 23-29, 2011.

TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL S.; LAMARDO, L.C.A.; CAMPOS, N.C.; JORGE, L.I.F.; GONZALEZ, E. Composição química e estudo anatômico dos frutos de buriti do Município de Buritizal, Estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 3, p. 227-232, 2003.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 669–675, 2006.

THOMPSON, M.; ELLISON, S.L.R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p. 835-855, 2002.

VAN DEN BERG, H.; FAULKS, R.; GRANADO H. F.; HIRSCHBERG, J.; OLMEDILLA, B.; SANDMANN, G.; SOUTHON, S.; STAHL, W. The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n. 7, p. 880-912, 2000.

VERMERRIS W.; NICHOLSON R. Families of phenolic compounds and means of classification. In: **Phenolic Compound Biochemistry**. Springer, Dordrecht, 2008.

VICTORIA, V. U.; PIRES, J.; TORRES, P.B.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F. Ensaio antioxidante do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. **Instituto de Biociências Universidade de São Paulo**, p. 1-6, 2016.

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.

WHITE, B., RICE, L., & HOWARD, L. R. **The procedure, principle, and instrumentation of antioxidant phytochemical analysis.** In Z. Xu & L. R. Howard (Eds.), *Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals*, (pp. 25-68). Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2012.

YIM, H. S.; CHYE, F. Y.; HO, S. K.; HO, C. W. Phenolic profiles of selected edible wild mushrooms as affected by extraction solvent, time and temperature. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, v. 2 n. 3 p. 392-401, 2009.

ZHANG, Z., LI, D., WANG, L., OZKAN, N., CHEN, X. D., MAO, Z. AND YANG, H. Optimization of ethanol–water extraction of lignans from flaxseed. **Separation and Purification Technology**, v. 57, n. 1, p. 17-24, 2007.