

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

**FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E POTENCIAL
ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DO
PEDÚNCULO DO CAJU (*Anacardium occidentale L.*)**

Recife

2013

Renata Araújo Milanez de Sena Andrade

**FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E POTENCIAL
ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DO
PEDÚNCULO DO CAJU (*Anacardium occidentale L.*)**

Dissertação apresentado á coordenação do programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: Prof^ª Dr^ª Enayde de Almeida Melo

CO-ORIENTADORA: Prof^ª Dr^ª Andrelina Maria Pinheiro Santos

Recife

2013

Ficha catalográfica

A553f Andrade, Renata Araújo Milanez de Sena
Fitoquímicos bioativos e potencial antioxidante do
resíduo agroindustrial do pedúnculo do caju (*Anacardium
occidentale* L.) / Renata Araújo Milanez de Sena Andrade.
– Recife, 2013.
94 f. : il.

Orientadora: Enayde de Almeida Melo.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Ciências Domésticas, Recife, 2013.
Referências.

1. Resíduo de caju 2. Compostos bioativos 3. Atividade
antioxidante I. Melo, Enayde de Almeida, orientadora
II. Título

CDD 664

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

**FITOQUÍMICOS BIOATIVOS E POTENCIAL
ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DO
PEDÚNCULO DO CAJU (*Anacardium occidentale L.*)**

Por: Renata Araújo Milanez de Sena Andrade

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 28/06/2013 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

BANCA EXAMINADORA:

**Prof^ª. Dr^ª Enayde de Almeida Melo - Presidente da Banca
Universidade Federal Rural de Pernambuco**

**Prof^ª Dr^ª Luciana Leite de Andrade Lima - Membro Externo
Universidade Federal Rural de Pernambuco**

**Prof^ª. Dr^ª Nonete Barbosa Guerra – Membro Interno
Universidade Federal de Pernambuco**

**Prof^ª. Dr^ª Samara Alvachian Cardoso Andrade – Membro Interno
Universidade Federal de Pernambuco**

DEDICATÓRIA

Esse trabalho é dedicado a todos da minha família e aos amigos que torceram para que isso se tornasse realidade, em especial ao meu filho, meu marido, meus pais e minha avó.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força concebida para seguir em frente, por iluminar meus caminhos;

Ao meu filho pela compreensão pela ausência em momentos importantes que eu gostaria muito de ter compartilhado com ele, pela companhia na madrugada enquanto eu escrevia meus trabalhos, pelo amor incondicional em todos os momentos, dizendo sempre “mamãe eu te amo”;

Ao meu amor (marido) pela compreensão pelas ausências, pela força em momentos difíceis e apoio sempre;

Aos meus pais por estarem sempre perto, dando força e incentivando para eu seguir em frente. A minha mãe sempre ao meu lado, dando colo quando preciso, sempre me ensinando que as coisas acontecem quando tem que acontecer;

A minha avó, meus irmãos, meus tios, em fim a todos os familiares pela força e apoio sempre;

A professora Enayde Melo por acreditar que eu seria capaz de desenvolver esse projeto, por todos os ensinamentos e que pra mim é um exemplo a seguir;

Aos professores do mestrado que contribuíram com os conhecimentos adquiridos, em especial a Prof^a. Vera Arroxelas, pelos conselhos, conversas e trabalhos desenvolvidos, sempre confiando que o trabalho seria realizado;

A Prof^a Andreлина (Lia) pelos ensinamentos, paciência e dedicação;

As amigas do mestrado, Jackeline, Naíra, Hayanna, Lívia e Flávia, pela força, pelas conversas, brincadeiras, trabalhos que realizamos juntas;

A Alexandre, Jackeline, Naíra, Hayanna, Lívia, Flávia pelas reuniões na hora do almoço, para nos distrairmos, matar as saudades e colocarmos as conversas em dia;

As amigas Aldenise, Joana, Analécia e Amanda, que torceram pela minha entrada no mestrado e mesmo de longe ficam felizes com a conclusão do curso;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Departamento de Ciências Domésticas por conceder a infraestrutura para realização dos experimentos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

Em fim, muito obrigada a todos (as) que contribuíram, sejam com os conselhos, as conversas, os ensinamentos, os pensamentos positivos, para que esse momento chegasse.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS - Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico;

BHA - Butil-hidroxianisol;

BHT- Butil-hidroxitolueno;

DCCR - Delineamento Compostos Central Rotacional;

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil;

EA - Atividade antirradical;

EAG - Equivalente em ácido gálico;

EC50 - Concentração mínima da substancia antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH;

EROs - Espécies reativas de oxigênio;

F1 - Relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução-padrão ou teste e o controle entre 15 e 45 min;

F2 - Relação entre as tangentes das curvas cinéticas da solução-padrão ou teste e o controle entre 75 e 105 min;

HCL – Ácido clorídrico

p – probabilidade de significância;

PG- Propil-galato;

R² – Coeficiente de determinação;

RDC – Resolução da diretoria colegiada

t - t calculado

TBHQ – ter-butil-hidroquinona;

TEAC – Capacidade antioxidante equivalente ao trolox;

T_{EC50}- tempo necessário para atingir o valor de EC50;

TESTE F- f calculado;

TROLOX – 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-acido carboxílico;

UV- ultra violeta

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estrutura química básica dos flavonoides | 26 |
| Figura 2. Estrutura química de alguns ácidos fenólicos | 27 |
| Figura 3. Estrutura química dos principais carotenoides | 29 |

ARTIGO 1:

| | |
|--|----|
| Figura 1. Superfícies de respostas para teor de fenólicos em função da (a) agitação X temperatura, (b) Concentração de acetona X temperatura e (c) concentração de acetona X agitação | 66 |
|--|----|

| | |
|--|----|
| Figura 2. Teor de fenólicos em extratos obtidos por processo de extração sequencial (acetona 55%; 30°C, 150 rpm; seguido por metanol 50%; 50°C, 100rpm) (total: quantidade extraída com acetona 55% somada a quantidade de fenólicos extraída em metanol 50%) | 68 |
|--|----|

| | |
|--|----|
| Figura 3. Capacidade do extrato da farinha do resíduo do pedúnculo do caju (hidroacetônico e hidrometanólico combinados) de sequestro do radical DPPH [•] (percentual atingido aos 5 minutos da reação, empregando extratos com três diferentes concentrações de fenólicos totais) | 69 |
|--|----|

ARTIGO 2:

| | |
|--|----|
| Figura 1. Capacidade de sequestro do radical DPPH [•] (%) da farinha do bagaço do pedúnculo do caju no 1º minuto da reação | 86 |
|--|----|

| | |
|---|----|
| Figura 2. Cinética da ação antioxidante da combinação dos extratos acetônico e metanólico (1:1) da farinha do resíduo do pedúnculo de caju, em sistema de co-oxidação β - caroteno/ácido linoleico (concentração final de 100 μ g de fenólicos totais/ mL) | 87 |
|---|----|

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1:

- Tabela 1.** Matriz de planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , níveis codificados e decodificados das variáveis, para obtenção de extratos hidrometanólico e hidroacetônico a partir de farinha do resíduo do pedúnculo do caju 54
- Tabela 2.** Matriz do delineamento fatorial 2^3 - composto central rotacional, níveis codificados e decodificados das variáveis, para obtenção de extratos hidroacetônico a partir de farinha do resíduo do pedúnculo de caju 55
- Tabela 3.** Caracterização da farinha do resíduo do pedúnculo de caju (dados experimentais e dados da literatura) 56
- Tabela 4.** Composição química da farinha do resíduo do pedúnculo de caju (dados experimentais e dados da literatura) 57
- Tabela 5.** Principais fitoquímicos bioativos presentes na farinha do resíduo do pedúnculo de caju (dados experimentais e dados da literatura) 58
- Tabela 6.** Fenólicos totais e capacidade de sequestro do radical DPPH• de extratos hidrometanólicos e hidroacetônicos da farinha do resíduo do pedúnculo de caju 60
- Tabela 7.** Efeitos estimados para extração de compostos fenólicos utilizando metanol como solvente extrator no planejamento fracionário 2^{4-1} 61
- Tabela 8.** Efeitos estimados para extração de compostos fenólicos utilizando acetona como solvente extrator no planejamento fracionário 2^{4-1} 62
- Tabela 9.** Fenólicos totais e percentuais de sequestro do radical DPPH• extratos hidroacetônicos da farinha de resíduo do pedúnculo de caju obtidos no delineamento composto central rotacional 64
- Tabela 10.** ANOVA para a resposta teor de fenólicos com solvente acetona 65

ARTIGO 2:

Tabela 1. Potencial antioxidante da farinha do resíduo do pedúnculo de caju frente ao radical DPPH• (Valores do EC50, TEC50 e classificação cinética) e ao radical ABTS•+ (TEAC) 84

Tabela 2. Ação antioxidante em meio lipídico - sistema β -caroteno/ácido linoléico – do extrato da farinha do resíduo do pedúnculo do caju: percentual de inibição da oxidação e fatores cinéticos 88

RESUMO

Os resíduos agroindustriais, constituídos por casca e semente, geralmente concentram quantidades relevantes de fitoquímicos bioativos, e muitas vezes apresentam capacidade antioxidante superior à encontrada na polpa do fruto. Devido considerando este fato, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante de resíduos de caju (bagaço do pedúnculo) provenientes da indústria processadora de polpa congelada de fruta. O resíduo, desidratado em estufa com circulação de ar (50°C), foi triturado e submetido à determinação da composição química e das condições de processo eficientes para obtenção de extratos com elevado teor de fenólicos totais. Para definir as melhores condições do processo de extração foi utilizado o planejamento fatorial fracionado 2⁴⁻¹ para cada tipo de solvente (acetona e metanol), tendo como variáveis independentes, tempo (30 a 90min), temperatura (30 a 50°C), concentração do solvente hidroacetônico e hidrometanólico (50% a 90%) e velocidade de agitação (100 a 300rpm); seguido do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), considerando os resultados obtidos com o primeiro planejamento, e como variáveis independentes o teor de fenólicos totais e capacidade de sequestrar o radical DPPH. Os extratos obtidos nas condições otimizadas foram submetidos aos ensaios antioxidantes de captura de radicais, em sistema modelo (DPPH e ABTS) e ao ensaio antioxidante em sistema lipídico (sistema da co-oxidação do B-caroteno/ácido linoléico). A farinha do resíduo apresentou em sua composição proteínas (9,65%), lipídeos (5,43%), carboidratos totais (76,68%), além de ácido ascórbico (78,5 mg.100⁻¹g), carotenoides totais (67,20µg.g⁻¹), antocianinas totais (36,05mg.100g⁻¹), flavonóis (109,03 mg.100g⁻¹), taninos condensados (313 mg.100g⁻¹) e fenólicos totais (1975,64 mg.100g⁻¹). As variáveis independentes do planejamento fatorial fracionário não influenciaram a extração dos compostos fenólicos por meio do metanol, entretanto, foram significativas quando foi utilizada acetona. O DCCR indicou que extratos com elevado teor de fenólicos totais e forte potencial antioxidante (>80%) podem ser obtidos empregando as seguintes condições: acetona a 55%, tempo de 30 minutos, temperatura de 30°C e velocidade de agitação de 150 rpm. Extratos hidroacetônico e hidrometanólico, obtidos de forma sequencial, empregando condições de processo otimizadas, apresentaram boa eficácia frente ao radical DPPH^{*} (EC₅₀ de 57,38 e T_{EC50} <0,5 minutos), e forte capacidade de sequestro do ABTS⁺⁺ (7.506,49µmol TEAC.g⁻¹). Em sistema β-caroteno/ácido linoléico a ação antioxidante foi intermediária (62,75%), indicativo de eficiência no bloqueio do início da reação de oxidação (F1<1) e baixa eficiência na fase de propagação (F2>1). Os resultados permitem evidenciar que o resíduo do pedúnculo do caju apresenta-se como fonte de compostos bioativos, com bom potencial antioxidante que pode ser empregado no desenvolvimento de novos produtos ou como matéria prima para extração de compostos antioxidantes a serem aplicados em alimentos, com vistas a deter a oxidação lipídica, em substituição total e/ou parcial aos antioxidantes sintéticos.

Palavras chave: resíduo de caju; compostos bioativos; atividade antioxidante.

ABSTRACT

The agro-industrial residues consisting of bark and seed, usually concentrate significant amounts of bioactive phytochemicals often have superior antioxidant capacity found in the pulp of the fruit. Due to this fact, this study aimed evaluate the antioxidant potential of cashew waste from the industrial processing of frozen fruit pulp. The residue was dried in an air circulating oven (50° C) until moisture content below 10%. The flour obtained was subjected to determination proximate composition and content of the main bioactive phytochemicals and optimize the process to obtain extracts. To determine the ideal processing conditions for preparing extracts with high total phenolic content and high antioxidant capacity the 2^{4-1} fractional factorial design and the central composite rotational design (DCCR) was applied for each type of solvent (acetone and methanol). Stirring time (30 to 90 minutes), processing temperature (30 to 50 °C), solvent concentration (50% to 90%) and Stirring speed (100 to 300 rpm) were used as independent variables, and the total phenolic content and percentage of DPPH radical scavenging were used as dependent variables. The extracts obtained using the optimized extraction process were subjected to determination of scavenging capacity DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) and inhibition of oxidation of co-oxidation system β -caroteno/ácido linoleic acid. The residue showed less than 10% moisture, 0.36 water activity, 9.65% protein content, 5.43% lipids and 76.68% carbohydrates in addition to ascorbic acid (78.5 mg.100g⁻¹), total carotenoids (67.20 mg.g⁻¹), total anthocyanins (36.05 mg.100g⁻¹), flavonols (109.03 mg.100g⁻¹), condensed tannins (313 mg.100g⁻¹) and phenolic (1975.64 mg.100g⁻¹). The variables did not influence the extraction of phenolic compounds by employing methanol as solvent extractor, independent of process conditions, but were significant when the extraction process used acetone. Extracts with high levels of polyphenols and strong scavenging capacity DPPH (> 80%) was obtained by employing acetone 55%, time 30 minutes, temperature of 30°C and agitation of 150 rpm. Hydroacetic and hydromethanolic extracts, obtained by sequential extraction process, were combined and subjected to antioxidant assays for free radical scavenging in a model system (DPPH and ABTS) and antioxidant assays in lipid systems (coupled oxidation of B-carotene/linoleic acid). The extracts exhibited good efficiency against DPPH (EC₅₀ of 57.38 and T_{EC50} <0.5 minutes), strong scavenging this radical (80.74 to 93.2%) and positive correlation between the total phenolic content and DPPH[•] scavenging capacity, and expressive ABTS^{•+} scavenging ability (7506.49 TEAC mol / g). In system β -carotene / linoleic acid the extract exhibited antioxidant action intermediate (62.75%), proving to be efficient in blocking the start of the oxidation reaction (F1 <1), but the propagation phase was not as effective (F2 > 1). Based on these results, it is evident that the waste cashew presents as a source of bioactive compounds with good antioxidant potential that can be used in developing new products or as raw material for extraction of antioxidant compounds to be applied in food, in order to deter lipid oxidation in total replacement and / or partial to synthetic antioxidants.

Keywords: waste cashew; bioactive compounds, antioxidant activity

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. <i>INTRODUÇÃO</i> | 19 |
| 2. <i>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</i> | 22 |
| 2.1 CAJU | 23 |
| 2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS | 25 |
| 2.3 CAROTENÓIDES | 28 |
| 2.4 ÁCIDO ASCÓRBICO | 29 |
| 2.5 RADICAIS LIVRES | 30 |
| 3. <i>OBJETIVOS</i> | 34 |
| 3.1 GERAL | 35 |
| 3.2 ESPECÍFICOS | 35 |
| 4. <i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i> | 36 |
| 5. <i>CAPÍTULO I:</i> | 47 |
| OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS A PARTIR DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE CAJU | 48 |
| RESUMO | 48 |
| ABSTRACT | 49 |
| INTRODUÇÃO | 50 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 51 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 56 |

| | |
|--|----|
| CONCLUSÕES | 69 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 70 |
| 6. <i>CAPÍTULO II:</i> | 76 |
| POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO AGRO-INDUSTRIAL DO CAJU | 77 |
| RESUMO | 77 |
| ABSTRACT | 78 |
| INTRODUÇÃO | 79 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 80 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 83 |
| CONCLUSÕES | 89 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 89 |
| 7. CONCLUSÕES GERAIS | 94 |

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutos, sendo responsável por 6% da produção mundial (ANDRIGUETO et al., 2010). Sua extensão territorial e a grande variação climática propicia a ocorrência de uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo. A região do Nordeste brasileiro se destaca pela diversidade de frutos tropicais, nativos e exóticos, com boas perspectivas para exploração econômica (SACRAMENTOS; SOUZA, 2000).

Dentre as espécies frutíferas destaca-se o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) que pertence à família Anacardiaceae. O gênero *Anacardium* possui mais de 21 espécies, todas de ocorrência tipicamente tropical. Das espécies deste gênero, o *Anacardium occidentale* L. é a única cultivada e de maior dispersão (LIMA et al., 2007). O pseudofruto bastante apreciado pode ser consumido “in natura”, inteiro, cortado em rodela, acompanhado de pratos como a feijoada e a peixada, como tira gosto para aperitivo, como suco, com leite, cozido, doces, refrigerante, etc., (AGROSUISSE, 2011). Além da diversidade de produtos provenientes do processamento do caju e de sua potencialidade de aproveitamento econômico, a agroindústria do caju tem ainda um grande impacto socioeconômico, em virtude do grande número de empregos nas atividades agrícolas, industriais e comerciais, gerando renda e fixando a família ao campo (MONTENEGRO, 2003; VALIM; ROUSEFF; LIN, 2003).

No Nordeste, a fruticultura vem adotando um processo de profissionalização, com exploração de áreas mais extensas, pela utilização da irrigação e pelo incremento de novas tecnologias, visando produção elevada e qualitativa de frutos. Em consequência dos avanços e investimentos na área da fruticultura, o número de agroindústrias instaladas por toda a região tem aumentado consideravelmente, gerando um incremento na produção de resíduos agroindustriais (LOUSADA JÚNIOR et al., 2006), cerca de 40% (BARTHOLO, 1994). Vale ressaltar ainda que a casca e as frações de semente de certas frutas contêm teores significativos de compostos biologicamente ativos, cuja atividade antioxidante é muitas vezes mais elevada do que na polpa (AJILA et al., 2007).

A indústria de alimentos, com o intuito de inibir a reação de oxidação que ocorre em óleos e gorduras e em alimentos que os contêm, faz uso de antioxidantes sintéticos. Entretanto, a inocuidade destes aditivos continua sendo questionada, uma vez que alguns estudos têm apontado possíveis efeitos mutagênicos e carcinogênicos (BIRCH et al., 2001). Além disso, nos últimos anos, os consumidores mais preocupados com a saúde têm buscado por produtos mais naturais, livres de aditivos. Desta forma, a indústria de

alimentos vem considerando a possibilidade de empregar antioxidante natural em uma gama de produtos (DEVATKAL; NAVEENA, 2010). Nesta perspectiva, resíduos agroindustriais vêm sendo utilizado para extração de compostos antioxidantes, como relatado por Moure et al. (2001) em sua revisão, e por estudos que constataram a ação antioxidante em resíduos de acerola, maracujá, abacaxi e goiaba (OLIVEIRA et al., 2009; CAETANO et al., 2009; NASCIMENTO, ARAÚJO, MELO, 2010).

Dentre os fitoquímicos bioativos presentes nos resíduos agroindustriais destacam-se os compostos fenólicos, produtos secundários do metabolismo vegetal. Estes compostos constituem um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, cuja solubilidade é governada pela polaridade do solvente extrator, grau de polimerização da molécula, e interação com outros constituintes presentes na matriz. Além disso, a eficiência do processo de extração é influenciada por outras variáveis como tempo, temperatura de extração e concentração do solvente extrator, entre outras (NACZK; SHAHIDI, 2004; CHEOK, et al., 2012). Impondo, portanto, a necessidade de definir, para cada matéria prima, o procedimento de extração mais eficaz.

Todas essas considerações apontam para a importância de conhecer o potencial antioxidante do resíduo agroindustrial do pedúnculo do caju na perspectiva de utilizá-los como fonte de antioxidante natural a ser empregada como aditivo em produtos alimentícios em substituição parcial ou total aos sintéticos. Assim, este trabalho teve como objetivo caracterizar este material e otimizar o processo para obtenção de extrato com elevado teor de fenólicos totais com vista a avaliar seu potencial antioxidante.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CAJU

O cajueiro é uma planta adaptada às condições adversas, sempre foi cultivado de forma natural, convivendo com diversas outras espécies vegetais e animais. Portanto, é uma planta com enorme potencial de desenvolvimento em sistemas agroecológicos com base na sustentabilidade ambiental (AGROSUISSE, 2011). O nome caju é de origem tupi, “acá-ju”, que significa fruto amarelo (LIMA, 1988).

De acordo com Lima (1988), a história do caju no Brasil inicia-se com publicações do monge naturalista francês, André Thevet, em 1558, citando em seu livro “Singularidades da França Antártica”, a que outros chamam de “América”, sobre a primeira dominação francesa no Brasil. Neste livro, o monge fez a primeira ilustração da planta e de seu fruto. O monge gaulês, Jean de Léry, que esteve no Brasil em 1557, também registrou a ocorrência do caju em seu livro “Viagem à terra do Brasil”. Em 1576, Pedro Magalhães Gandavo, escritor português, ao descrever o cajueiro, comparou a castanha do caju com a mais saborosa das amêndoas. O pesquisador Fernão Cardim, em 1548, descreveu que as castanhas podem ser comidas assadas, cruas e deitadas em água como amêndoas piladas, podendo-se ainda fazer doces. Em 1587, o pesquisador, Gabriel Soares de Sousa, escreveu em seu livro “Tratado descritivo do Brasil em 1587”, sobre o uso da castanha e o valor medicinal do suco, chamando a atenção para o óleo da casca da castanha. Maurício de Nassau protegeu os cajueiros, através da resolução que fixou a multa de cem florins por cajueiro derrubado, visto que a fruta tinha uma importância de sustento para os índios e para a exportação de doces cristalizados para a Holanda. Posteriormente, os portugueses levaram o cajueiro para as Índias, iniciando sua disseminação pelo mundo, inclusive para a África, espalhou-se pelas costas leste e oeste desse continente, encontrando condições muito favoráveis para seu desenvolvimento.

Diversas partes do cajueiro são utilizadas. A raiz pode ser usada como purgante, ou mesmo como suporte para facilitar o transporte de mercadorias pelos trabalhadores. Quando cozidas, as cascas do tronco liberam uma substância tintorial avermelhado-escura, que foi muito utilizada pelos pescadores para tingir suas roupas, redes e linhas de pesca, com isto adquirem maior durabilidade (LIMA, 1988). O fruto e pedúnculo podem ser consumidos em diferentes formas e originar produtos variados. A planta é de grande importância socioeconômica para o País, uma vez que a exploração de aproximadamente 758.085 hectares de cajueiros mobiliza no campo 300 mil pessoas e proporcionam uma produção relevante de castanha e pedúnculo. Em 2009 esta produção foi de 220.505 t de

castanha e 1.592.530 t de pedúnculo (IBGE, 2011; FAO, 2011). Em 2008 apresentou um volume de exportação de 4.019Kg de castanha de caju, fresca ou seca, com casca. A região Nordeste do Brasil responde por mais de 95% da produção nacional, sendo os estados do Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e Bahia os principais produtores (IBRAF, 2008).

O caju é constituído pela castanha, reconhecida como fruto, e pelo pseudofruto ou pedúnculo, parte polpuda e de composição succulenta. O potencial de agro industrialização do pedúnculo, que representa cerca de 90% do peso do caju, permite que dele sejam obtidos diversos produtos, tais como, polpa congelada, bebidas (suco clarificado, vinho), sucos (concentrado, pronto para beber), refrigerantes, doces, conservas etc., que são amplamente aceitos no mercado brasileiro (SOUZA FILHO et al.,2000; VALIM;ROUSEFF;LIN,2003).

A colheita é realizada quando o pedúnculo está completamente desenvolvido, ou seja, com o tamanho máximo, textura firme e com a coloração característica do clone. A colheita deve ser feita nas horas de temperatura mais amenas. A prática corretas para a colheita envolve uma leve torção para que o pedúnculo se solte do ramo da panícula. Caso o pedúnculo ofereça resistência para soltar-se, revela que ainda não alcançou o estágio de maturação ideal para colheita. O contato direto com a palma da mão também deve ser evitado por elevar a temperatura da polpa, acelerando a deterioração. Ainda no campo, pode ser feita uma pré-seleção, para separar os caju destinados ao mercado de mesa e os que serão destinados à indústria, inclusive fazendo o descastanhamento. Estas operações devem ser realizadas à sombra e no menor tempo possível (MONTENEGRO et al., 2003). Na indústria são aceitos pedúnculos com defeitos físicos, como deformações ou pouco desenvolvimento de cor, desde que não apresentem sinais de doenças, ataque de pragas ou de fermentação (SOUZA FILHO et al., 2000).

O processamento de produtos agrícolas tem gerado uma grande quantidade de resíduos oriundos do tratamento industrial, a exemplo de semente e cascas de vegetais (SILVA FILHO et al., 1999). A indústria de processamento de frutos produz ao longo de sua cadeia produtiva uma grande quantidade de resíduos agroindustriais, o que gera perda de divisas, além de inúmeros problemas ambientais (SENA; NUNES, 2006). Com o aumento da capacidade de processamento, são gerados grandes quantidades de resíduos, que em muitos casos são considerados custo operacional para as empresas ou fonte de contaminação ambiental (LOUSADA JUNIOR et al., 2006). Segundo Martins e Faria

(2002), calcula-se que, do total de frutas processadas para obtenção de sucos e de polpas sejam gerados entre 30 a 40% de resíduos agroindustriais. Essa quantidade de resíduos pode chegar a muitas toneladas, agregar valor a esses produtos é de interesse econômico e ambiental, necessitando de investigação científica e tecnológica, que possibilite sua utilização eficiente, econômica e segura (SCHIEBER et al., 2001).

Estudos têm demonstrado que as frutas são ricas em muitos nutrientes e compostos antioxidantes, os quais se concentram majoritariamente nas cascas e sementes (COSTA et al., 2000; MELO et al., 2008; ABRAHÃO et al., 2010). Esses resíduos possuem em sua composição vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes, importantes para as funções fisiológicas. No entanto, na maioria das fábricas, este material é desperdiçado, caracterizando-se frequentemente como potenciais poluidores ambientais (MATIAS et al., 2005). Assim, reduzir o volume desses resíduos pode configurar como uma alternativa bem sucedida para a indústria de alimentos e bebidas (AMANTE et al., 1999; HENNINGSSON et al., 2004).

Os fitoquímicos que possuem propriedades antioxidantes, a exemplo dos compostos fenólicos, atuam inibindo ou retardando o processo oxidativo nos alimentos, e estão presentes em diversos resíduos agroindustriais, como os de goiaba, acerola e graviola (SOUSA et al., 2011). Ação antioxidante do resíduo agroindustrial de acerola, goiaba, sementes de lichia e de uva foi relatada por Caetano et al. (2009), Nascimento, Araújo e Melo (2010) e Babbar et al. (2011), respectivamente.

2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos se caracterizam pela presença de um anel aromático contendo uma ou mais hidroxila, que lhes confere propriedade antioxidante. Deste grupo de compostos faz parte tanto moléculas simples como moléculas com alto grau de polimerização, que são encontradas nos vegetais tanto na forma livre, como ligada a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998; BRAVO, 1998). Atualmente são conhecidos mais de 8000 compostos pertencentes a este grupo de fitoquímicos que podem estar presentes em diversas partes das plantas, como nas sementes, frutos, folhas, casca, caule e também na raiz (DREOSTI, 2000).

Os compostos fenólicos estão divididos em flavonoides e não flavonoides e são formados durante o endurecimento de frutas a partir de aminoácidos aromáticos. Dentre os compostos deste grupo, destacam-se os flavonoides e os ácidos fenólicos por estarem

amplamente distribuídos na natureza e serem os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (SOARES, 2002). Estruturalmente, os flavonoides possuem três anéis C6-C3-C6, dos quais dois deles apresenta seis carbonos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam o anel γ pirano, denominado anel C. As várias classes de flavonoides se diferenciam de acordo com o número e posição de hidroxilas e metoxilas ligadas ao anel C (Figura 1). Esses compostos estão presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes das plantas na forma de glicosídeos ou agliconas (DEGÁSPARI, 2004).

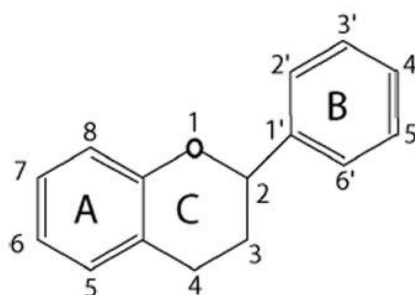


Figura 1. Estrutura química básica dos flavonoides.
(FONTE: ÂNGELO; JORGE, 2007)

Os taninos integram o grupo dos compostos fenólicos e de acordo com a estrutura podem ser classificados em condensados e hidrolisáveis. Os condensados, um tipo de flavan-3-óis (epicatequina) são polímeros de flavonoides (flavan-3-ol e flavan-3,4-diol), cujos monômeros estão ligados entre carbono. Os taninos condensados constituem cerca de metade da matéria seca das cascas das árvores, e podem ser considerados como a segunda fonte de polifenóis do reino vegetal (QUEIROZ; MORAES; NASCIMENTO, 2002). Os hidrolisáveis são ésteres dos ácidos gálico e hexahidroxidifênico e glicose, além de outros polióis, e possuem grupos hidroxilas dos glicídios esterificados com ácidos fenólicos. Os taninos colaboram com o sabor adstringente de muitos alimentos, a exemplo o caju, e bebidas (AGOSTINE-COSTA; LIMA; LIMA, 2003).

Os flavonóis são comumente encontrados em vegetais, cuja concentração varia em função das condições climáticas, prática de cultivo, armazenamento e vegetais processados (CARIDI et al., 2007). As flavanonas são caracterizadas pela presença de instauração nos anéis aromáticos, cadeia de três carbonos e um átomo de oxigênio ligado no carbono, e geralmente, estão glicosiladas por um dissacarídeo ligado ao carbono 7. Encontradas em grandes concentrações apenas em frutas cítricas, porém pode também estar presentes em tomate e algumas plantas aromáticas como hortelã (KLEJDUS et

al.,2007; D'ARCHIVIO et al.,2007). As antocianinas são pigmentos solúveis em água, responsáveis pelas cores vermelho, roxo ou azul, dependendo do pH do meio. Pode ser encontrada em todos os tecidos das plantas, incluindo folhas, raízes, caules, frutos e flores (IVERSEN, 1999).

Os flavonoides atuam como antioxidantes primários, interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou de hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis. Merece destaque, os flavonóis, pois atuam também como antioxidante secundário, retardando a etapa de iniciação da autooxidação através da complexação com metais (SHI; NIKI, 1998; MELO; GUERRA, 2002; PIETTA, 2000).

Os ácidos fenólicos estão divididos em dois grupos: derivados dos ácidos hidroxibenzóicos, constituídos por sete átomos de carbono (C6-C1) com grupo carboxílico ligado ao anel aromático e derivados dos ácidos hidroxicinâmico, constituídos por nove átomos de carbono (C6-C3), dos quais três formam uma cadeia lateral. Dentre os hidroxibenzóicos destacam-se os ácidos protocatecúico, vanílico, siríngico, gentísico, salicílico e gálico. Segundo Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998), o ácido gálico aumenta a capacidade de sequestrar radicais. De acordo com Rice-Evans (1995), a atividade dos ácidos hidroxibenzóicos depende do número e posição da hidroxila na molécula, na posição meta ou para. Entre os hidroxicinâmicos destacam-se os ácidos p-cumárico, cafeíco, ferúlico e sináptico como mais encontrados no reino vegetal (Figura 2). Com a ciclização da cadeia lateral do ácido p-cumárico origina-se um terceiro grupo de fenólicos denominados cumarinas (SOARES, 2002).

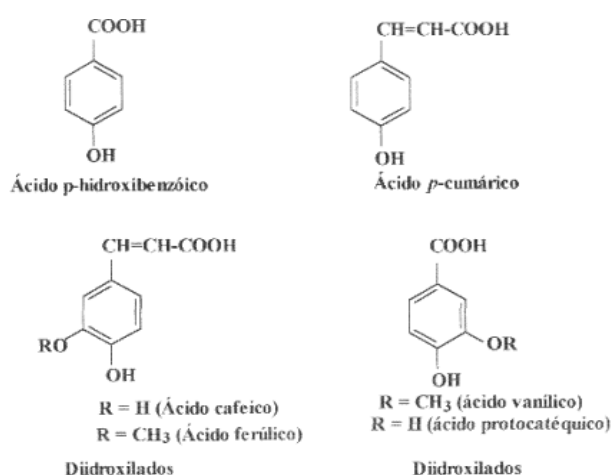


Figura 2. Estrutura química de alguns ácidos fenólicos
(FONTE: ÂNGELO; JORGE, 2007)

A intensidade da ação antioxidante dos fenólicos é dependente de sua estrutura molecular e, mais especificamente, da posição e do grau de hidroxilação do anel aromático. As características estruturais, também, influenciam o mecanismo de ação destes compostos (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992; OU et al. 2002).

Nos últimos anos vários estudos foram desenvolvidos para quantificação e identificação de compostos fenólicos em caju. Bronzini et al.(2007) identificaram em extrato sequencial (etanol seguido por água) obtido do bagaço de caju, um total de nove ácidos fenólicos, dos quais quatro eram derivados hidroxibenzóico (gálico, protocatecúico, gentísico e salicílico) e cinco derivados de ácido hidroxicinâmico (caféico, ferúlico, cinâmico, quínico e p-cumárico). Brito et al. (2007) identificaram 13 flavonóis glicosilados. Michodjehoun-Mestres et al.(2009) ao estudarem fenóis monoméricos em caju identificaram miricetina e quercitina hexosídeos (2 de cada), pentosídeos (3 de cada), e rhaminosídeos como componentes majoritários. Também foram detectadas antocianinas glicosiladas, como peonidina, petunidina e cianidina-3-o-hexosídeos. Estudando flavonóis em frutas frescas e processadas no Brasil Hoffmann-Ribani, Huber e Rodriguez-Amaya (2009) detectaram miricetina em caju.

2.3 CAROTENOIDES

Os carotenoides são tetraterpenoides lipofílicos amplamente distribuídos na natureza (Figura 3). Compreendem uma família de compostos naturais, com mais de 600 compostos conhecidos. Apresentam estruturas químicas diversas e funções variadas. Aqueles constituídos apenas por carbono e hidrogênio são denominados de carotenos, e aqueles com possui oxigênio em sua molécula são chamados de xantofilas (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; FARFAN, 2008).

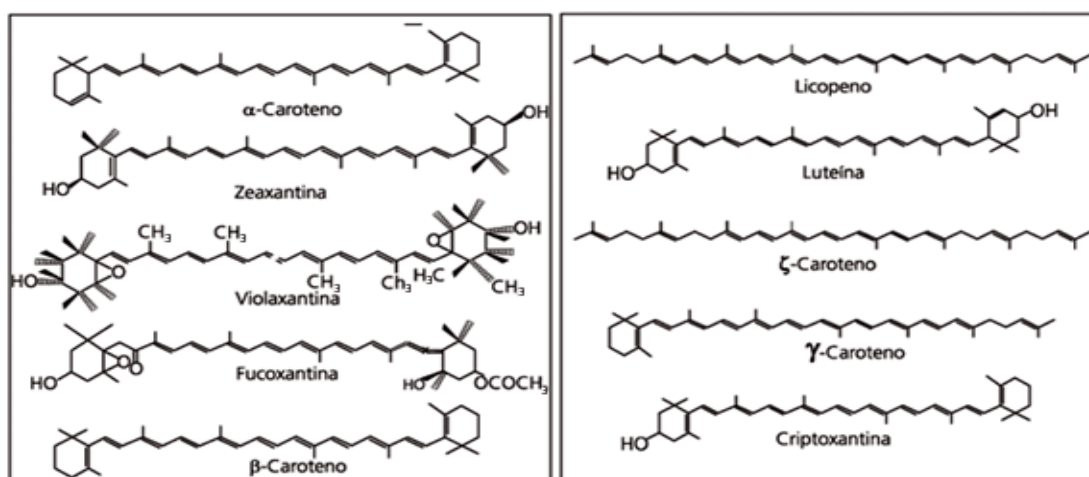


Figura 3. Estrutura química dos principais carotenoides

Fonte: (AMBRÓSIO; CAMPOS, FARO, 2006)

Uma característica peculiar dos carotenoides é a presença de um sistema de duplas ligações conjugadas, denominado cromóforo, responsáveis por absorver luz e conferir as cores amarela, alaranjada e vermelha aos alimentos, além da propriedade antioxidante. Sete duplas ligações conjugadas é o requisito mínimo para conferir cor ao carotenoide, cuja intensidade está relacionada ao número de duplas conjugadas. Para a propriedade antioxidante é exigido um cromóforo com nove ou mais duplas ligações, para atuarem sequestrando o oxigênio singlete e/ou interagir com radicais livres (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004).

O teor de carotenoides de um alimento é influenciado por fatores intrínseco e extrínseco. Dentre os primeiros podem ser citados a cultivar e o estágio de maturação, enquanto que os segundos envolvem as condições de cultivo, solo, pós-colheita, armazenamento, processamento, localização geográfica do cultivo (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). Em resíduo do pedúnculo, Barreto et al. (2007) relataram o teor de carotenoides totais teores de 43,3-54,9 $\mu\text{g/g}$, e identificaram oito de carotenoides, dentre eles *all-trans*-luteína, *13-cis*+*13'-cis*- β -criptoxantina, *all-trans*- β -criptoxantina, *13-cis*- β -caroteno, *all-trans*- α -caroteno, neurosporeno, *all-trans*- β -caroteno e *9-cis*- β -caroteno.

2.4 ÁCIDO ASCÓRBICO

A vitamina C é o termo genérico para todos os compostos que exibem a atividade biológica de ácido ascórbico, sendo os principais representantes desta vitamina o L-ascórbico e ácido dehidroascórbico (BALL, 2006). Esta vitamina é uma substância

crystalina, hidrossolúvel e de sabor ácido, insolúvel na maioria dos solventes orgânicos e pode ser degradado pelo calor, ar e meio alcalino. Atua como um potente e, provavelmente, o mais importante antioxidante, hidrofílico, inclusive utilizado como padrão nas determinações analíticas (LYKKESFELDT, 2002; RETSKY et al., 1993). É eficaz na limpeza radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, o oxigênio hidroxila, radical singlete e óxido de nitrogênio reativo (HALLIWELL ; GUTTERIDGE, 2007). O ácido ascórbico, como agente antioxidante, libera dois átomos de hidrogênio da molécula, dando origem ao ácido desidroascórbico. Enquanto que a redução se dá quando dois átomos de hidrogênio são adicionados ao ácido desidroascórbico, formando novamente o ácido ascórbico (ARANHA et al., 2000).

2.5 RADICAIS LIVRES

Os primeiros estudos a respeito de radicais livres ocorreram por volta de 1924, no entanto, apenas nos anos setenta, foi relatada a importância destes radicais para os seres vivos, particularmente para os seres aeróbios (BAST et al. 1991). Nestes seres, os radicais livres são produzidos continuamente durante os processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes no metabolismo. As mitocôndrias, por exemplo, que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, bem como a membrana citoplasmática são as fontes endógenas destes radicais (AUGUSTO, 2006). Além disso, são encontrados em todos os sistemas biológicos, e têm como alvo celular as proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA, os quais estão relacionados com o seu sítio de formação (ANDERSON, 1996; YU; ANDERSON, 1997). Estes alvos ao serem atingidos, com certa intensidade, podem provocar a desestabilização do meio molecular (HALLIWELL, 1997; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; THOMAS, 2000; ABDALLA, 2000; WILHELM FILHO et al., 2001), levando a consequências graves para o organismo.

Os radicais livres são moléculas orgânicas e inorgânicas bem como os átomos que contém um ou mais elétrons não pareados, com existência independente (HALLIWELL, 1994). Atualmente, são denominadas de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). A configuração química destas moléculas as torna altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. Essa peculiaridade química que confere alta reatividade aos radicais livres é à base de sua possível toxicidade (SALDANHA, 2005), dando origem ao aparecimento de muitas doenças. Vale destacar que os danos ao DNA

causados pelos radicais livres desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (POULSEN et al., 1998).

As EROs podem ser geradas por fontes endógenas ou exógenas. Os processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, tais como: redução de flavinas e tióis; resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons dão origem as EROs endógenas. Entre as fontes exógenas geradoras de radicais livres estão o tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações (SOARES, 2002). Os sistemas biológicos controlam estes fatores oxidativos via diversos mecanismos antioxidantes que restringem a reatividade dos radicais livres. Muitos componentes da dieta, essenciais ou não, podem contribuir para estes sistemas de defesa antioxidantes (DECKER, 1997).

Assim, a produção exagerada das EROs, de modo a superar as defesas naturais do organismo, torna-se nocivas, podendo desencadear uma série de doenças crônicas degenerativas não transmissíveis (FLOYD, 1997, HATHERILL, 1991 apud FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Evidencia-se que as EROs encontram-se relacionadas há cerca de 60 condições clínicas, entre elas a catarata, a aterosclerose, o câncer, doenças cardiovasculares, alterações no sistema nervoso, entre outras (LANGSETH, 1995; KALIORA; DEDOUSSIS, 2007).

Nos alimentos, a oxidação lipídica, desencadeada a partir da ação de radicais livres, é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando-os impróprios para consumo. Além das alterações organolépticas, afetam a qualidade nutricional dos alimentos promovendo à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, colocando em risco a integridade e a segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006). Assim, lipoperoxidação é um ponto importante na indústria alimentícia, onde a oxidação é minimizada por meio do uso de antioxidantes durante a industrialização (BAGGIO, 2006).

O uso dos antioxidantes sintéticos teve início nos anos 40. A estrutura fenólica destes compostos permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. Dessa maneira, os derivados fenólicos transformam-se em radicais livres e podem se estabilizar sem promover ou propagar reações de oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

Porém, estudos toxicológicos têm demonstrado que os antioxidantes sintéticos apresentam efeito nocivo ao organismo, frente a estes efeitos adversos, o uso dos antioxidantes sintéticos é limitado em muitos países. No Brasil, o Ministério da Saúde através da Resolução da diretoria colegiada- RDC Nº 64, de 16 de setembro de 2008 estabelece como concentração máxima permitida é de 0,02g. 100g⁻¹ para BHA, BHT, TBHQ e PG (ANVISA, 2011).

Os efeitos adversos à saúde atribuídos aos antioxidantes sintéticos levaram à busca por antioxidantes provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (DURAN; PADILLA, 1993). Dentro deste contexto, surgem os resíduos agroindustriais por apresentarem quantidade relevante de compostos fenólicos, após o processamento, podem ser vistos como fontes interessantes de antioxidantes naturais (MOURE et al., 2001; LAPORNIK, et al., 2005; CAETANO et al., 2009; NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010; BABBAR et al., 2011).

A eficiência antioxidante dos fitoquímicos bioativos depende de sua estrutura e da sua concentração no alimento. Por sua vez, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros.

Ademais, na quantificação destes compostos, o substrato utilizado no ensaio, o solvente e a técnica de extração utilizada, também, são fatores que influenciam a capacidade antioxidante (MOURE et al., 2001; NACZK; SHAHIDI 2004; PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008). Devido à diversidade da estrutura química dos compostos antioxidantes e de seus mecanismos de ação, vários ensaios têm sido desenvolvidos para avaliar a capacidade antioxidante de diferentes amostras, não existindo uma metodologia universal para essa determinação. Alguns determinam a habilidade dos antioxidantes para sequestrar radicais livres gerados no meio da reação, outros, utilizando lipídeos como substrato e avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica através da quantificação dos produtos da reação, como dienos conjugados e hidroperóxidos, bem como dos produtos de decomposição da peroxidação lipídica (FRANKEL; MEYER, 2000; ANTOLOVICH et al., 2002; GIADA; MANCINI-FILHO, 2004) ou medição da inibição da oxidação do lipídeo do sistema pelo antioxidante a ser testado (OLIVEIRA et

al.,2009). Com isso justifica a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por vários mecanismos de ação diferente.

3.OBJETIVOS

3.1GERAL

Avaliar o potencial antioxidante de resíduos do pedúnculo do caju provenientes da indústria processadora de polpa congelada de fruta.

3.2ESPECÍFICOS

- Caracterizar físico-quimicamente a farinha do resíduo do bagaço do pedúnculo do caju;
- Otimizar o processo de extração de fenólicos com vistas a obter extratos com elevado teor de compostos fenólicos e forte capacidade antioxidante;
- Quantificar os principais fitoquímicos bioativos;
- Investigar a capacidade antioxidante de extratos do resíduo do caju obtidos com o processo de extração otimizado por diferentes métodos “in vitro”;
- Averiguar a existência de correlação entre o teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante dos resíduos do pedúnculo do caju.

4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABDALLA, D.S.P.; Estresse oxidativo e alimentação. In:TIRAPEGUI J., coord. **Nutrição: fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: Atheneu. 2000. p.179- 2000.

ABRAHÃO, S.A.; PEREIRA, R.G.F.A.; DUARTE, S.M.S.; LIMA, A.R.; ALVARENGA, D.J.; FERREIRA, E.B. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffe arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.2, p.414-420, mar./abr., 2010.

AGOSTINI-COSTA, T.S.; LIMA, A.; LIMA, M.V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina *versus* método do butanol ácido. **Química Nova**. 26: 763-765, 2003.

AGROSUISSE. Cultivo de caju. Disponível em <<http://www.planetaorganico.com.br/newsprod13.htm>> Acesso em 27/05/2011.

AJILA, C.M.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO,V.J.S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian Mango varieties. *Food Chemistry*, London 102, 1006-1011. 2007.

AMANTE, E.R.; CASTILHO JUNIOR, A.B.; KANZAWA, A.; ENSSLIN, L.; MURAKI, M. Um panorama da tecnologia limpa na indústria de alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 16-21, 1999.

AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, p.233-243, 2006.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutation Research*, Amsterdam, v.350, n.1, p.103-108, 1996.

ANDRIGUETO, J.R.; NASSER, L.C.B.; TEIXEIRA, J.M.A. **Produção integrada de frutas**: conceito, histórico e a evolução para o sistema agropecuário de produção integrada -SAPI. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: abr. 2011.

ANGELO P.M, JORGE N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v66, n.1, p.232-240, 2007.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; McDONALD, S.;ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, London, v. 127, n.1, p. 183-198, 2002.

ANVISA – Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. RDA 64 de 16 de setembro de 2008. Disponível em <www.anvisa.gov.br>, acesso em 21 de Mai de 2011.

ARANHA,F.Q.; BARROS,Z.F.; MOURA,L.S.A.; GONÇALVES, M.C.R.; BARROS,J.C.; METRI,J.C.; SOUZA,M.S. O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas no idoso. **Revista de Nutrição**, v.13, p.89-97, 2000.

AUGUSTO, O. **Radicais livres: bons, maus e naturais**. São Paulo: oficina de textos,2006. p.115 .

BABBAR, N.; Oberoi,H.S.; Uppal,D.S.; Patil,R.T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, v. 44, p. 391–396, 2011.

BAGGIO, J. Avaliação dos resíduos (casca e pó orgânico) de café (coffea arabica l.) como provável fonte de substâncias bioativas. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

BALL, G. F. M. *Vitamin in foods: Analysis Bioavailability and Stability*. United States of America: CRC Press Taylor and Francis Group, 2006.

BARTHOLO, G. F. Perdas e qualidade preocupam. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, V.17, n. 179, p.3. 1994.

BARRETO, G.P.M.; SOUZA, A.C.R.; AZEREDO, H.M.C.; MERCADANTE, A.Z. Bioactive compounds and free radical scavenger activity in ingredients prepared from the waste of the cashew-apple nut industry. **Alimentos e nutrição**, v.18, n.2, p. 207-213, 2007.

BAST, A.; ET AL. Oxidants and antioxidants: State of the art. *American Journal Medicine*, v.91: p.2-13. 1991.

BIRCH, A. E.; FENNER, G. P.; WATKINS, R.; BAYD, L. C. Antioxidant proprieties of evening primrose sud extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, V.49, p.4502-4507, 2001.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**. New york, v.56, n.1, p. 317-333,1998.

BRITO, E.S.; ARAÚJO, M.C.P.; LIN, L.Z.; HARNLY, J. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry**, v.105, n.3, p.1112-1118, 2007.

BRONZINI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale L.*). **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v.27, p.902-908, 2007.

CAETANO, A.C.S.; MELO, E.A.; LIMA, V.L.A.G.; MACIEL, M.I.S.M; ARAÚJO, C.R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de Acerola. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Campinas, V.12, n.2,p.155-160,2009.

CARIDI, D., TRENERRY, V. C., ROCHFORT, S., DUONG, S., LAUGHER, D., E JONES, R. Profiling and quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa L.*) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v.105, p.691–699, 2007.

CHEOK, A.C.Y.; CHINA, N.L.; YUSOFA, Y. A.; TALIBA, R.A.; LAW, C.L. Optimization of total phenolic content extracted from *Garcinia mangostana* Linn. hull using response surface methodology versus artificial neural network **Industrial Crops and Products**, v.40, p.247–253, 2012.

COSTA, R.P.; MENENDEZ, G.; BRICARELLO, L.P.; ELIAS, M.C.; ITO, M. Óleo de peixe, fitosteróis, soja e antioxidantes: impactos nos lipídios e aterosclerose. **Revista da Sociedade de Cardiologia**, São Paulo, v.10, n.1, p.819-832, 2000.

CROFT, K.D.; The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**; v.854. 435-442. 1998.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; BENEDETTO, R.D.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. POLYPHENOLS, Dietary sources and bioavailability. **Annali del'Instituto Superiore di Sanità**. 2007; 43: 348-361.

DECKER, E.A. Phenolics: Prooxidants or Antioxidants? **Nutrition Reviews**, v. 55, n. 11, p. 396-398, 1997.

DEGÁSPARI, C. H.; **Propriedades antioxidantes e antimicrobianas dos frutos da aroeira (*schinus terebenthifolius raddi*)**. 2004. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

DEVATKAL, S.K.; NAVEENA. B.M. Effect of dalt, kinnow and pome granate fruit bay-product powders on color and oxidative stability os raw ground goat meat during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 85, n. 2, p. 306-311, 2010.

DREOSTI J.E.; Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition**, New York, v.16, n.7/8, p. 692-694, 2000.

DURÁN, R.M.; PADILLA, B. Actividad antioxidante delos compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.

FAO – FAOSTAT. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/567/desktopdefault.aspx?pageid=567> > Acesso em: 29 de Abril de 2011.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S.; Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica do Brasil**, v. 43, n. 1, p.61-68, 1997.

FLOYD, R.A. Production of free Radicals. Primer on Cerebrovascular Diseases, p. 165-169, 1997.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, n.13, p. 1925-1941, 2000.

GIADA, M.L.R.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante in vitro de compostos fenólicos de alimentos. Nutrire: **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição**, v. 26, p.91-107, 2004.

HALLIWELL, B.; Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; Antioxidants and human disease: a general introduction. **Nutrition Reviews**, New York n.55, p.44-52,1997.

HALLIWELL,B.; GUTTERIDGE,J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine, 4th ed.; Oxford University Press: Oxford, 2007.

HENNINGSSON, S.; HYDE, K.; SMITH, A.; CAMPBELL, M. The value of resource efficiency in food industry: a waste minimization project in East Anglia, UK. **Journal of Cleaner Production**, v. 12, n.5, p. 505-512, 2004.

HOFFMANN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal Food Composition and Analysis**, v.22, n.4, p.263-268, 2009.

IBGE - Banco de dados agregados. Disponível em:<www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=18&i=p&c=1618>. Acesso em: 29 de Abril de 2011.

IBRAF – INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. Disponível em <www.ibraf.org.br> Acesso em 29 de Mai de 2011.

IVERSEN, C. K. Black currant nectar: effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. **Journal of Food Science**, v.64, p.37–41, 1999.

KALIORA,A.C.; DEDOUSSIS,G.V.Z. Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD. **Pharmacological Research**,v. 56, p.99–109, 2007.

KLEJDUS, B., VACEK, J., BENEŠOVA, L., KOPECKY', J., LAPCIK, O., & KUBAN , V. Rapidresolution HPLC with spectrometric detection for the determination and identification of isoflavones in soy preparations and plant extracts. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.389, p.2277–2285, 2007.

LANGSETH, L. Oxidant, antioxidants and disease prevention. **ILSI Europe**, p. 4-13, 1995.

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

LIMA, V. P. M. S.; *A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil*, Banco do Nordeste do Brasil-ETENE: Fortaleza, 1988.

LIMA, E.S.; SILVA, E. G.; MOITA, J.M.N.; MOITA, G.C. Redução de vitamina c em suco de caju (*Anacardium occidentale* L.) industrializado e cajuína. **Química Nova**, Vol. 30, No. 5, 1143-1146, 2007.

LOUSADA JÚNIOR, J.E.; COSTA,J.M.C.; NEIVA,J.M.M.; RODRIGUEZ,N.M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Agronômica**, V.37,n.1,p.70-76,2006.

LYKKESFELDT, J. Increased oxidative damage in vitamin C deficiency is accompanied by induction of ascorbic acid recycling capacity in young but not mature guinea pigs. *Free radical Research*, v. 36, n. 5, p. 567-574, 2002.

MARTINS, C.R.; FARIAS, R.M. Produção de alimentos x desperdício: tipos, causas e como reduzir perdas na produção agrícola. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.9, n.1, p.83-93, 2002.

MATIAS, M.F.O.; OLIVEIRA, E.L.; GERTRUDES, E.; MAGALHÃES, M.A. Use of fibres obtained from the cashew (*Anacardium occidentale*, L) and guava (*Psidium guajava*) fruits for enrichment of food products. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.48, p.143-150, 2005.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B.; Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas: v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.A.G.L.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.44, n.2, p.193-201, 2008.

MONTENEGRO, A. A.T.; CARBAJAL, A. C. R.; MESQUITA, A. L. M. Cultivo do Cajueiro: Sistema de Produção. In: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Caju/cultivodoCajueiro/index.htm>>. Acesso em 29 de Mai de 2011.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H. NÚÑEZ, M.J.; PARAJÁ, J.C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, Washington, n.72, p. 145-171, 2001.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L.; SOUQUET, J.M.; FULCRAND, H.; BOUCHUT, C.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.M. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 851-857, 2009.

NASCIMENTO, R. J.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.2, p.209-216.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.; Extraction and analysis of phenolics in food, **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1054, p. 95–111. 2004.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; BARROS, M.P.; MANO, C.M.; GOULART, M.O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, Washington, V.15, n.2, p. 469-475, 2009.

OU, B.; HUANG, D.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; DEEMER, E. K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 50, p.2914-2919, 2002.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TAERNEIRO, M.; DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v.41, p.274-285, 2008.

PIETTA, P.G.; Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, n.7,p.1035-1042, 2000.

POULSEN, H.E.; PRIEME, H.; LOFT, S.; Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v.7, n.1, p.9-16, 1998.

QUEIROZ, C.R.A.A.; MORAES,S.A.L.; NASCIMENTO, E.A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v.26, p.485-492, 2002.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em oleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RETSKY, K.L.; FREEMAN, M.W.; FREI, B. Ascorbic acid oxidation product(s) protect human low density lipoprotein against atherogenic modification. Anti- rather than prooxidant activity of vitamin C in the presence of transition metal ions. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 2, p. 1304-1309, 1993.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J. Antioxidants – the case for fruit and vegetables in the diet. **British Food Journal**, v. 97, n. 9, p. 35-40, 1995.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. **HarvestPlus handbook for carotenoid analysis**. Washington, DC: International Food Policy Research Institute; Cali: International Center for Tropical Agriculture, 2004. 58p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B; KIMURA, M; AMAYA-FARFAN J. **Fontes brasileiras de carotenóides**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2008. 99 p.

RODRIGUEZ-AMAYA,D.B.; KIMURA,M.; GODOY,H.T.; AMAYA-FARFAN,J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p.445– 463, 2008.

SACRAMENTO,C. K.; SOUZA, F. X. **Cajá (Spondias mombim L.)**. Jaboticabal: FUNEP, (Série Frutas Nativas), 42p. 2000.

SALDANHA, L.A.; Avaliação da atividade antioxidante in vitro de extratos de ervamate (*Ilex paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*). 2005. **Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)**- Faculdade de Saúde Pública. Universidade São Paulo. São Paulo.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F.C.; CARLE, R. Byproducts of plant food processing as a source of functional compounds: recent developments. *Trends Food Science Technology*, Cambridge, v.12, n.11, p.401- 413, 2001.

SENA, R.F.; NUNES, M.L. Utilização de resíduos agroindustriais no processamento de rações para carcinicultura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.7, n.2, p.94-102, 2006.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D.; Phenolic antioxidants. **CRC-Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SHI, H.; NIKI, E. Stoichiometric and kinetic studies on ginkgo biloba extract and related antioxidants. **Lipids**, v.33, n.4, p.365-370, 1998.

SILVA FILHO, J.C.S.; ARMELIN, M.A.J.A.; SILVA, A.G. Determinação da composição mineral de subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação animal pela técnica de ativação neutronica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 2, p. 235-241, 1999.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; SILVA, M. J. M.; LIMA, A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciência Agrotécnica de Lavras**, v. 35, n. 3, p. 554-559, 2011.

SOUZA FILHO, M.S.M.; ARAGÃO, A.O.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.F. **Aspectos da colheita, pós-colheita e transformação industrial do pedúnculo do caju (*Anacardium occidentale L.*)**. Embrapa, 2000. Disponível em <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/aspectoColheita_Caju_000g7d94xb102wx5ok0wtedtxxfvd00.pdf>. Acesso em 11 de dezembro de 2011.

THOMAS, M.J.; The role of free radicals and antioxidants. **Nutrition**, v. 16, n. 7/8, p.16-18, 2000.

VALIM, M. F.; ROUSEFF, R. L.; LIN, J. Gas chromatographic-olfatometric characterization of aroma compounds in two types of cashew apple nectar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 1010-1015, 2003.

WILHELM FILHO, D.; SILVA, E.L.; BOVERIS, A.; Flavonoides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. 2001. p. 317-340.

YU, T-W., ANDERSON, D. Reactive oxygen species-- induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. *Mutation Research*, Amsterdam, v.379, n.2, p.201-210, 1997.

5. CAPÍTULO I

OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS A PARTIR DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE CAJU

RESUMO

A diversidade de produtos industriais obtidos a partir do pedúnculo do caju tem gerado resíduo sólido (bagaço) que geralmente é descartado. Considerando que este material ainda apresenta em sua constituição fitoquímicos bioativos e a inexistência de uma metodologia universal para a extração de polifenóis, este trabalho teve como objetivo caracterizar físico-quimicamente o bagaço do pedúnculo do caju e otimizar o processo para obtenção de extratos com maior teor fenólicos totais e forte capacidade antioxidante. O resíduo, após secagem em estufa, foi submetido à determinação da composição centesimal e dos principais fitoquímicos bioativos. Para definir as melhores condições do processo de extração foi utilizado o um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} para cada tipo de solvente (acetona e metanol), tendo como variáveis independentes, tempo (30 a 90min), temperatura (30 a 50°C), concentração do solvente hidroacetônico e hidrometanólico (50% a 90%) e velocidade de agitação (100 a 300rpm); seguido do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), considerando os resultados obtidos com o primeiro planejamento, tiveram como variáveis dependentes fenólicos totais e capacidade de sequestrar o radical DPPH. Os extratos foram avaliados quanto ao teor de fenólicos totais extraído e a capacidade do extrato de sequestrar o radical DPPH. As variáveis estudadas não influenciaram na extração dos compostos fenólicos ao empregar metanol como solvente extrator, independente das condições do processo, porém foram significativas quando o processo de extração utilizou acetona. Extratos com altos teores de polifenóis e forte capacidade de sequestro do radical DPPH (>80%) foram obtidos ao empregar acetona a 55%, tempo de 30 minutos, temperatura de 30° e agitação de 150 rpm. Evidencia-se, portanto, que o resíduo de pedúnculo de caju é uma potencial fonte natural de compostos bioativos, com forte capacidade antioxidante, permitindo vislumbrar a sua aplicação em alimentos em substituição total e/ou parcial aos antioxidantes sintéticos.

Palavras chave: compostos fenólicos; resíduo de caju; capacidade antioxidante.

ABSTRACT

The diversity of industrial products obtained from cashew stalk has generated solid waste that is usually discarded. Whereas this material still has in its constitution bioactive phytochemicals and the lack of a universal methodology for the extraction of polyphenols, this study aimed to characterize the physic-chemically agro industrial residue cashew and optimize the process to obtain extracts with high phenolic content and strong antioxidant capacity. The dried residue was subjected to the determination of the proximate composition and content of the main bioactive phytochemicals. To determine the ideal processing conditions for preparing extracts with high total phenolic content and high antioxidant capacity the 2^{4-1} fractional factorial design and the central composite rotational design (DCCR) was applied for each type of solvent (acetone and methanol). Stirring time (30 to 90 minutes), processing temperature (30 to 50 °C), solvent concentration (50% to 90%) and Stirring speed (100 to 300 rpm) were used as independent variables, and the total phenolic content and percentage of DPPH radical scavenging were used as dependent variables. The variables did not influence the extraction of phenolic compounds by employing methanol as solvent extractor, independent of process conditions, but were significant when the extraction process used acetone. Extracts with high levels of polyphenols and strong scavenging capacity DPPH (> 80%) was obtained by employing acetone 55%, time 30 minutes, temperature of 30 °C and agitation of 150 rpm. It is evident, therefore, that the residue of cashew is a potential source of natural bioactive compounds with strong antioxidant capacity, allowing envision its application in food in total replacement and/or partial to synthetic antioxidants.

Keywords: phenolic compounds; residue cashew; antioxidant capacity.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a cajucultura apresenta relevância socioeconômica, com uma área plantada de 758.085 hectares, e uma produção de 220.505 t de castanha e 1.592.530 t de pedúnculo (IBGE, 2011; FAO, 2011). A diversidade de produtos industriais obtidos a partir do pedúnculo do caju gera grande quantidade de resíduo (bagaço) que é descartado, podendo desencadear sérios problemas ambientais. Vale ressaltar que na produção de sucos e polpas, os resíduos correspondem a cerca de 40% do peso da maioria das frutas, como manga, acerola, maracujá e caju (BARTHOLLO, 1994). Esses resíduos, com exceção do caju, constituídos por casca e semente, geralmente contêm quantidades relevantes de fitoquímicos bioativos, e muitas vezes apresentam capacidade antioxidante superior à encontrada na polpa do fruto (AJILA et al., 2007; ABREU, 2001).

Por outro lado, a indústria de alimentos com objetivo de inibir reações de oxidação lipídica faz uso de antioxidantes sintéticos. No entanto, a inocuidade destes aditivos vem sendo questionada, uma vez que estudos apontaram para possíveis efeitos mutagênicos e carcinogênicos (BIRCH et al., 2001). Este fato tem impulsionado as pesquisas que buscam por fontes de antioxidantes naturais. Neste contexto encontram-se os resíduos agroindustriais que vêm sendo utilizados para extrair compostos com propriedade antioxidante, como relatado por Moure et al., (2001). Vários resíduos de frutas tropicais tem demonstrado forte potencial antioxidante, a exemplo do resíduo de acerola (CAETANO et al., 2009), maracujá e abacaxi (OLIVEIRA et al., 2009) e goiaba (NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010).

Entretanto, para a extração de fitoquímicos antioxidantes não existe um procedimento padrão tendo em vista a variabilidade química destes compostos. Além disso, a matriz do alimento, o tempo e a temperatura do processo influenciam na eficácia da extração destes fitoquímicos. Assim, a combinação de solventes com diferentes polaridades e o emprego de pelo menos dois ciclo de extração vêm sendo recomendado para otimizar esta extração (LARRAURI et al., 1997; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2005; SAURA-CALIXTO; GOÑI, 2006). O procedimento metodológico que envolve solventes orgânico-aquosos, três ciclos de extração e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ mostrou-se eficaz para extrair quantidade significativa de polifenóis a partir de resíduos de acerola (CAETANO et al., 2009). Em resíduo de goiaba, a maioria dos polifenóis foi solubilizada em acetona 80% e metanol 80%, enquanto que quantidade estatisticamente

inferior foi extraída em água (100%) e etanol (80%) (NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010).

Considerando a especificidade de cada matéria prima e dos compostos fitoquímicos presentes bem como das diversas variáveis que interferem na eficiência do processo de extração, torna-se importante a aplicação do planejamento fatorial. Esta ferramenta vem sendo muito usada para definir as condições de processo tendo em vista que permite observar, ao mesmo tempo, a influência de variáveis sobre uma resposta desejada, reduzindo o tempo e o número de experimentos, com uma boa confiabilidade nos resultados (RODRIGUES; LEMMA, 2009). Assim, frente à quantidade de resíduo de caju produzida pela agroindústria e a presença de quantidades significativas de polifenóis nestes materiais, este trabalho teve como objetivo caracterizar o resíduo agroindustrial de caju, utilizando o planejamento fatorial, otimizar as condições de processo para extração destes fitoquímicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Os resíduos de caju, constituído pelo bagaço do pedúnculo, foram cedidos por uma indústria produtora de polpa congelada de frutas, localizada na cidade de Recife/PE. Este material foi coletado diretamente da linha de produção e, imediatamente, transportado para Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE, onde foram submetidos à secagem, em estufa com circulação de ar (50°C), até atingir umidade igual ou inferior a 10%. Em seguida, os resíduos desidratados foram triturados, em moinho de faca (Tecnal 631/2), passados em tamiz de 80 mesh para obtenção de uma farinha de granulometria uniforme, que foi acondicionada em sacos de polietileno de alta densidade, e mantida sob congelamento (-20°C). Estas amostras foram utilizadas na extração de polifenóis de acordo com as condições do planejamento experimental (**Tabela 1**).

Métodos

Determinações analíticas

A farinha do resíduo de caju foi submetida a determinações de umidade, extrato etéreo, proteínas, resíduo mineral fixo, açúcares totais, açúcares redutores, açúcares não

reduzidos e pH, segundo o método da AOAC (2005). A atividade de água foi determinada em Aqualab 4TE Decagon Devices a 25°C. Carboidratos totais foram calculados por diferença conforme a Equação 1 e o resultado expresso em g.100g⁻¹.

100 g – (gramas totais de umidade+ proteína + extrato etéreo + resíduo mineral fixo) (Equação 1)

Quantificação dos principais fitoquímicos

Flavonóis totais e antocianinas totais: Para a extração, a farinha (5g) foi homogeneizada em solução de etanol 95% e HCl 1,5N (85:15 v/v), e deixada em repouso por 12h, a 5°C, ao abrigo da luz. Em seguida, após filtração e repouso de duas horas, o extrato foi submetido à leitura espectrofotométrica a 374nm e a 535nm, para flavonóis e antocianinas, respectivamente. Para a quantificação dos flavonóis e antocianinas utilizou-se, respectivamente, o coeficiente de absorvidade molar de 76,6 e de 98,2, e os resultados foram expressos em mg em equivalente de quercetina por 100g da amostra e em mg em equivalente de cianidina-3glicosídeo por 100g amostra, segundo método Lees e Francis (1972).

Taninos Condensados: A extração e a quantificação dos taninos condensados foram efetuadas segundo método descrito por Tiitto-Julkunen (1985). A farinha do resíduo de caju (5g) foi adicionada à acetona 70%, e deixada sob agitação durante três ciclos de 20 minutos, seguindo de filtração. Vanilina a 4% em metanol e, em seguida, HCl concentrado foram adicionados a uma alíquota do extrato. Após o repouso de 20 minutos, a absorbância foi registrada no comprimento a 500nm, e os resultados expressos em mg em equivalente de catequina por 100 gramas da amostra.

Ácido Ascórbico: determinado por método titulométrico utilizando 2,6 diclofenol indofenol (AOAC, 2005).

Carotenoides totais: A extração dos carotenoides totais foi efetuada segundo metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (1999). Para quantificação foi utilizado à absorbância registrada a 450nm, o coeficiente de absorvidade ($E_{cm}^{1\%}$) de 2500 e a seguinte expressão matemática:

$$\mu\text{g/g} = \frac{\text{Volume} \times \text{absorbância} \times 10^6}{E_{cm}^{1\%} \times \text{peso amostra}}$$

Os resultados foram expressos em µg em equivalente de β-caroteno por g da amostra.

Fenólicos Totais: Para a extração foi empregado processo sequencial utilizando acetona a 55% e metanol a 50%. A farinha do resíduo (5g) foi deixada sob agitação, por 30 min, no primeiro solvente extrator, e em seguida, centrifugado a 4000rpm. O sobrenadante foi coletado e o precipitado ressuspense no segundo solvente, submetido à agitação por 30 min, e centrifugado a 4000 rpm. Os sobrenadantes foram combinados, concentrados sob pressão reduzida a 40° C, e o volume final aferido para 50mL. O teor de fenólicos totais foi quantificado segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999), e o resultado expresso em mg em equivalente de ácido gálico por 100g de resíduo (mg EAG. 100g⁻¹).

Capacidade antioxidante de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH): Determinada segundo metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995) e os resultados expressos em % de sequestro do radical DPPH.

Aplicação do Planejamento Experimental no processo para obtenção de extratos

Com o objetivo de definir as melhores condições do processo de extração dos compostos fenólicos da farinha do resíduo de caju foram utilizados dois tipos de planejamento de experimentos. O primeiro planejamento experimental foi o fatorial fracionado 2⁴⁺¹ para cada tipo de solvente (acetona e metanol). Este planejamento teve como função avaliar a influência das variáveis independentes: tempo (30 a 90min), temperatura (30 a 50°C), concentração do solvente hidroacetônico e hidrometanólico (50% a 90%) e velocidade de agitação (100 a 300rpm) (Tabela 1). Com os resultados desse primeiro planejamento, aplicou-se o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com objetivo de otimizar o rendimento de compostos fenólicos totais, cujas condições estão apresentadas na Tabela 2. Os dois planejamentos tiveram como variáveis dependentes o teor de fenólicos totais (µg EAG. mL⁻¹) (WETTASINGHE; SHAHIDI, 1999) e capacidade antioxidante de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH) (%) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) dos extratos.

Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , níveis codificados e decodificados das variáveis, para obtenção de extratos hidrometanólico e hidroacetônico a partir de farinha do resíduo do pedúnculo do caju.

| Ensaio | Tempo (min.) | Temperatura (°C) | Agitação (rpm) | Concentração do solvente (%) |
|---------------|---------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| 1 | -1(30) | -1(30) | -1(100) | -1(50) |
| 2 | +1(90) | -1(30) | -1(100) | +1(90) |
| 3 | -1(30) | +1(50) | -1(100) | +1(90) |
| 4 | +1(90) | +1(50) | -1(100) | -1(50) |
| 5 | -1(30) | -1(30) | +1(300) | +1(90) |
| 6 | +1(90) | -1(30) | +1(300) | -1(50) |
| 7 | -1(30) | +1(50) | +1(300) | -1(50) |
| 8 | +1(90) | +1(50) | +1(300) | +1(90) |
| 9 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) |
| 10 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) |
| 11 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) |
| 12 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) |

Tabela 2. Matriz do delineamento fatorial 2^3 - composto central rotacional, níveis codificados e decodificados das variáveis, para obtenção de extratos hidroacetônico a partir de farinha do resíduo do pedúnculo do caju.

| Ensaio | Temperatura (°C) | Agitação (rpm) | Concentração do solvente (%) |
|--------|------------------|----------------|------------------------------|
| 1 | -1(30) | -1(150) | -1(55) |
| 2 | 1(45) | -1(150) | -1(55) |
| 3 | -1(30) | 1(250) | -1(55) |
| 4 | 1(45) | 1(250) | -1(55) |
| 5 | -1(30) | -1(150) | 1(75) |
| 6 | 1(45) | -1(150) | 1(75) |
| 7 | -1(30) | 1(250) | 1(75) |
| 8 | 1(45) | 1(250) | 1(75) |
| 9 | -1,68(25) | 0(200) | 0(65) |
| 10 | 1,68(50) | 0(200) | 0(65) |
| 11 | 0(37,5) | -1,68(117,5) | 0(65) |
| 12 | 0(37,5) | 1,68(282) | 0(65) |
| 13 | 0(37,5) | 0(200) | -1,68(48,2) |
| 14 | 0(37,5) | 0(200) | 1,68(81,2) |
| 15 | 0(37,5) | 0(200) | 0(65) |
| 16 | 0(37,5) | 0(200) | 0(65) |
| 17 | 0(37,5) | 0(200) | 0(65) |

TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todas as determinações referentes a caracterização físico-química da farinha do resíduo foram realizadas em triplicatas, conduzidas ao abrigo da luz, e os resultados expressos em média e desvio padrão. Os dados dos planejamentos experimentais, bem como, a análise de variância (ANOVA) dos efeitos das variáveis de processo foram analisados utilizando o programa Statistica (Statsoft 7.0).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização da farinha do resíduo do pedúnculo do caju

A farinha do resíduo do pedúnculo de caju apresenta teor de água (umidade de 6,82 g 100g⁻¹ e atividade de água de 0,36) característico de um produto desidratado e pH levemente ácido, próprio de frutos (Tabela 3). Em alimentos desidratados a atividade de água (aw) que corresponde a água livre ou ativa no alimento encontra-se na faixa de 0 a 0,6, e o teor de umidade que representa a água total presente no alimento deve permanecer abaixo de 25%. Açúcares totais, redutores e não redutores, quantificados na farinha do resíduo do pedúnculo de caju, apresentam valores semelhantes aos relatados por Matias et al. (2005). Em geral, os frutos apresentam elevado teor de açúcares, sobretudo frutose e glicose. Em caju (pedúnculo) fresco e desidratado em estufa o teor de açúcares totais foi de 2,48 % e 9,86%, respectivamente (PINHO et al., 2011).

Tabela 3. Características da farinha do resíduo do pedúnculo de caju (dados experimentais e dados da literatura)

| Constituintes | Teores | |
|-------------------|---------------|----------------------------|
| | experimentais | literatura |
| Atividade de Água | 0,36±0,002 | - |
| pH | 4,3±0,005 | 3,48 (Pinho et al., 2011) |
| | | 4,72 (Uchôa, 2007) |
| | | 3,82 (Matias et al., 2005) |

Médias de três determinações mais desvio padrão

Os dados referentes à composição química da farinha do resíduo de caju encontram-se na Tabela 4. O baixo teor de umidade e de atividade de água favorece a conservação do material uma vez que as reações químicas, microbiológicas e bioquímicas são interrompidas ou têm sua velocidade reduzida. Uchôa (2007) e Pinho et al.(2011) relatam teor de umidade de 6,99% e 6,80%, respectivamente, para o resíduo do pedúnculo desidratado, valores semelhantes ao encontrado neste estudo (Tabela 4). Evidencia-se que este produto apresenta teores relativamente elevados de proteína, lipídeos e carboidratos totais, os valores de proteínas e lipídeos foram semelhantes aos encontrados por Pinho et al.(2011) e Tocchini (1985). Segundo Pinho et al. (2011), o processo de desidratação concentra os componentes do alimento, justificando o teor mais elevado no material seco. Este autor relata que o teor de proteína do pedúnculo de caju fresco é de 2,07 mg.100g⁻¹,

e que após a desidratação em estufa este constituinte atinge valores entre 9,18 e 10,56 mg.100g⁻¹. (PINHO et al., 2011).

Tabela 4. Composição química da farinha do resíduo do pedúnculo de caju (dados experimentais e dados da literatura)

| Constituintes | Teores | |
|---|---------------|-----------------------------------|
| | experimentais | literatura |
| Umidade e Substâncias Voláteis (g 100g ⁻¹) | 6,82 ±0,55 | 6,80 (Pinho et al., 2011) |
| | | 6,99 (Uchôa, 2007) |
| Resíduo mineral fixo (g 100g ⁻¹) | 1,42±0,08 | 1,09 (Pinho et al., 2011) |
| | | 1,66 (Montenegro, 2003) |
| | | 1,78 (Uchôa, 2007) |
| Proteínas (g 100g ⁻¹) | 9,65±0,08 | 9,18 a 10,56 (Pinho et al., 2011) |
| | | 3,25 (Matias et al, 2005) |
| | | 13,42 (Araújo, 1987) |
| Lipídeos (g 100g ⁻¹) | 5,43±0,76 | 3,17 (Montenegro, 2003) |
| | | 3,01 (Uchôa, 2007) |
| | | 3,25 (Araújo, 1987) |
| | | 5,76 (Tocchini, 1985) |
| Carboidratos totais (g 100g ⁻¹) | 76,68±1,39 | - |
| Açúcares totais (% glicose) | 16,40±0,17 | 9,86 (Pinho et al., 2011) |
| | | 16,86 (Matias et al, 2005) |
| Açúcares redutores (% glicose) | 12,20±0,19 | 20,26 (Alcântara et al.,2007) |
| | | 13,32 (Matias et al., 2005) |
| Açúcares não redutores (% sacarose) | 3,99±0,36 | - |

Médias de três determinações mais desvio padrão

Os teores dos principais fitoquímicos bioativos presentes na farinha do resíduo do pedúnculo de caju encontram-se na Tabela 5. Evidencia-se que este resíduo detém quantidades relevantes de fitoquímicos. O teor de ácido ascórbico foi superior ao relatado por Uchôa (2007) para pó de caju (34,72 mg.100g⁻¹) e pó de goiaba (21,55mg.100g⁻¹). Os carotenoides, compostos responsáveis por conferir a cor amarela, alaranjada e vermelha aos alimentos, encontram-se presentes no resíduo desidratado em quantidade superior ao quantificado por Melo et al. (2006) no pedúnculo fresco (5,34µg. β-caroteno. g⁻¹).

Além do ácido ascórbico e dos carotenoides (Tabela 5), a farinha do resíduo em estudo apresenta, ainda, quantidades expressivas de fenólicos totais ($1.975,64 \pm 24,11$ mg EAG. $100g^{-1}$). Esta classe de compostos apresenta valores muito superiores aos determinados por Rufino et al. (2010), porém inferiores aos citados por Sulaiman et al. (2011). O primeiro autor empregando na extração, processo sequencial (metanol 50% seguido por acetona (70%)), e o segundo procedendo a extração destes fitoquímicos em acetona (70%), relatam teor de 830,00 e de 2.920,00 mg. $100g^{-1}$, respectivamente. O teor de taninos condensados, polímero de alto peso molecular, foi inferior ao relatado por Araújo (1987). Dependendo do grau de polimerização, os taninos exercem importante papel nas características sensoriais do fruto, adstringência e amargor, além de apresentar correlação positiva com a atividade antioxidante.

Tabela 5. Principais fitoquímicos bioativos presentes na farinha do resíduo do pedúnculo de caju (dados experimentais e dados da literatura)

| Fitoquímicos | Teores | | |
|--|----------------------|---------------------|--|
| | experimentais | Dados da literatura | |
| Ácido ascórbico (mg $100g^{-1}$) | $78,50 \pm 16,74$ | 34,72 | (Uchôa, 2007) |
| Taninos condensados (mg equivalente catequina. $100g^{-1}$) | $313,00 \pm 7,69$ | 1.400 | (Araújo, 1987) |
| Flavonóis (mg de quercetina. $100g^{-1}$) | $109,03 \pm 1,37$ | - | - |
| Carotenoides totais (μg equivalente β -caroteno. g^{-1}) | $67,20 \pm 1,15$ | - | - |
| Antocianinas (mg equivalente cianidina-3glicosídeo. $100g^{-1}$) | $36,05 \pm 1,02$ | - | - |
| Fenólicos totais* (mg EAG. $100g^{-1}$) | $1.975,64 \pm 24,11$ | 830,00 2.920,00 | (Rufino et al., 2010) (Sulaiman et al., 2011) |

Médias de três determinações mais desvio padrão; *extração sequencial (acetona+metanol); EAG= equivalente em ácido gálico

Segundo Naczki e Shahidi (2006), a extração de polifenóis é influenciada pelo tipo e polaridade do solvente, pelo tempo e temperatura de extração, assim como, pelas características físicas da amostra. A diferença da polaridade do solvente de extração pode influenciar a solubilidade dos componentes químicos em uma amostra (ZAO et al., 2006). Os valores diferenciados dos polifenóis deste resíduo quando comparados com os dados da literatura relativos aos teores de fitoquímicos em pedúnculo de caju desidratado ou liofilizado se deve também aos aspectos metodológicos relacionados à extração e a

quantificação. Além disso, fatores intrínsecos e extrínsecos, dentre eles, a variedade genética, estágio de maturação, cultivar, clima e condições de cultivo, colheita e pós-colheita, entre outros, contribuem para a diversidade, em termos quantitativos, dos fitoquímicos (LEE; KADER, 2000; CAPECKA; MARECZEK; LEJA, 2005),

Esses compostos, considerados fitoquímicos bioativos, exibem uma reconhecida ação antioxidante, atuando por diferentes mecanismos, dentre eles a complexação de íons metálicos, captura de radicais livres, decomposição de peróxidos, doação de elétrons e de hidrogênio (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; Berset, 1995), inativação de espécies reativas de oxigênio, absorção de radiação UV, entre outros (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007).

Planejamento Fatorial Fracionário: Extratos hidrometanólicos e hidroacetônicos

Teor de Fenólicos Totais

Para avaliar as melhores condições de extração dos compostos fenólicos foram utilizados dois tipos de solventes, metanol e acetona. Nos ensaios realizados com metanol, os resultados apresentados na Tabela 6 demonstraram que independente das condições de processo a variação no teor de fenólicos não foi expressiva (de 466 a 603 $\mu\text{g. ml}^{-1}$).

Tabela 6. Fenólicos totais e capacidade de sequestro do radical DPPH^{*} de extratos hidrometanólicos e hidroacetônico da farinha do resíduo do pedúnculo de caju.

| Ensaio | Fatores | | | | Metanol | Acetona | | |
|--------|--------------|--------|----------------|------------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|
| | tempo (min.) | T (°C) | Agitação (rpm) | Concentração do solvente (%) | Teor de fenólicos (µg/ml) | DPPH(%) (aos 5 min.) | Teor de fenólicos (µg/ml) | DPPH(%) (aos 5 min.) |
| 1 | -1(30) | -1(30) | -1(100) | -1(50) | 498,93±29,43 | 66,91 | 1.344,00±44,49 | 92,86 |
| 2 | +1(90) | -1(30) | -1(100) | +1(90) | 511,20±52,58 | 57,66 | 745,70±46,84 | 70,64 |
| 3 | -1(30) | +1(50) | -1(100) | +1(90) | 466,00±48,08 | 67,60 | 710,00±33,94 | 57,43 |
| 4 | +1(90) | +1(50) | -1(100) | -1(50) | 574,40±70,76 | 76,49 | 1.589,20±79,40 | 91,98 |
| 5 | -1(30) | -1(30) | +1(300) | +1(90) | 516,70±28,93 | 65,70 | 747,50±21,55 | 78,71 |
| 6 | +1(90) | -1(30) | +1(300) | -1(50) | 513,70±30,48 | 74,55 | 1.481,30±56,92 | 91,91 |
| 7 | -1(30) | +1(50) | +1(300) | -1(50) | 570,50±31,04 | 79,80 | 1.445,50±22,01 | 93,51 |
| 8 | +1(90) | +1(50) | +1(300) | +1(90) | 465,70±72,06 | 75,32 | 777,70±20,43 | 75,74 |
| 9 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) | 537,40±15,81 | 78,68 | 1.372,60±38,92 | 95,39 |
| 10 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) | 567,10±22,77 | 81,16 | 1.444,30±30,23 | 94,87 |
| 11 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) | 603,00±51,04 | 83,23 | 1.153,10±64,18 | 92,86 |
| 12 | 0(60) | 0(40) | 0(200) | 0(70) | 596,60±11,21 | 81,62 | 1.294,90±34,65 | 70,64 |

De acordo com a Tabela 7, correspondente aos efeitos significativos, que analisa estatisticamente, a influência da variável no processo, levando em consideração a faixa estudada evidencia-se que não houve influencia na extração dos compostos fenólicos, exceto a concentração do solvente. Observa-se que as menores quantidades de fenólicos foram extraídas com as maiores concentrações do solvente.

Tabela 7. Efeitos estimados para extração de compostos fenólicos utilizando metanol como solvente extrator no planejamento fracionário 2⁴⁻¹.

| | Efeito Estimado | Erro padrão | t | p | Limite de confiança - 95% | Limite de confiança + 95% |
|----------------------------|------------------------|--------------------|----------|----------|----------------------------------|----------------------------------|
| *Média | 514,6163 | 10,65076 | 48,31734 | 0,000020 | 480,721 | 548,5117 |
| Curvatura | 122,8175 | 36,89531 | 3,32881 | 0,044759 | 5,400 | 240,2348 |
| Tempo (min) | 3,1675 | 21,30152 | 0,14870 | 0,891225 | -64,623 | 70,9584 |
| T(°C) | 8,9675 | 21,30152 | 0,42098 | 0,702110 | -58,823 | 76,7584 |
| Agitação (rpm) | 3,9675 | 21,30152 | 0,18625 | 0,864128 | -63,823 | 71,7584 |
| *Conc. solvente (%) | -49,5325 | 21,30152 | -2,32530 | 0,102586 | -117,323 | 18,2584 |

* variáveis significativas, R²=0,6190, p<0,05

Para obter uma validação ou a comprovação dos resultados, foram escolhidas a condição que propiciou a maior extração de fenólicos (ensaio 4) e a condição do ponto central (ensaio 12). Neste procedimento, mantiveram-se as condições de tempo, temperatura e agitação dos ensaios, alternando-se os valores de concentrações. Sendo assim, o ensaio 4 utilizou a concentração do ensaio 12 (condição *a*) e o ensaio 12 a do 4 (condição *b*). Contatou-se que com o metanol, o teor de fenólicos extraído na condição *a* (624,33 µg/ml) e *b* (628,24 µg/ml) foram semelhantes, confirmando que metanol não tem efeito significativo no processo de extração. Vale ressaltar que esta constatação não é uma regra geral, tendo em vista que para outros resíduos, a exemplo da casca de manga Tommy Atkins, (ARAÚJO, 2012) o metanol se mostrou eficaz como solvente extrator. Sendo, portanto, necessário aplicar planejamentos para cada matéria prima, com vista a identificar qual o melhor solvente e condições de extração para obtenção de extratos com elevados teores de fenólicos totais.

No caso da acetona, como solvente extrator, os resultados foram mais significativos uma vez que uma maior quantidade de fenólicos foi extraída (Tabela 6). Demonstrando que a acetona pode ser considerada um solvente com uma melhor capacidade de extração, e que a sua concentração tem uma influência limitante no processo, pois com o aumento da concentração deste solvente ocorre uma redução na quantidade de fenólicos extraída (Tabela 6). Este efeito limitando é confirmado na análise dos efeitos (Tabela 8), indicando a influência negativa que a concentração de acetona tem no processo, ou

melhor, que altas concentrações de acetona extraem menores quantidades de fenólicos. Sendo assim, pode-se verificar na Tabela 6 que a máxima extração ($1.589,20 \pm 79,40 \mu\text{g/ml}$) foi alcançada quando se utilizou tempo de 90 minutos, temperatura de 50°C , agitação 100 rpm e concentração de solvente 50%, e uma menor extração foi alcançada com 30 minutos, 50°C , 100rpm e concentração do solvente de 90% ($710,00 \pm 33,94 \mu\text{g/ml}$).

Tabela 8. Efeitos estimados para extração de compostos fenólicos utilizando acetona como solvente extrator no planejamento fracionário 2^{4-1} .

| | Efeito Estimado | Erro padrão | t | p | Limite de confiança - 95% | Limite de confiança + 95% |
|---------------------------------------|------------------------|--------------------|----------|----------|----------------------------------|----------------------------------|
| *Média | 1105,113 | 42,2349 | 26,16587 | 0,000122 | 970,702 | 1239,523 |
| Curvatura | 396,225 | 146,3060 | 2,70819 | 0,073276 | -69,386 | 861,836 |
| Tempo (min) | 86,725 | 84,4698 | 1,02670 | 0,380109 | -182,096 | 355,546 |
| T($^\circ\text{C}$) | 50,975 | 84,4698 | 0,60347 | 0,588770 | -217,846 | 319,796 |
| Agitação (rpm) | 15,775 | 84,4698 | 0,18675 | 0,863770 | -253,046 | 284,596 |
| *Conc. solvente (%) | -719,775 | 84,4698 | -8,52109 | 0,003395 | -988,596 | -450,954 |

* variáveis significativas, $R^2=0,9547$, $p<0,05$

O planejamento fatorial demonstrou que apenas a concentração do solvente tinha um efeito negativo, indicando que quanto mais alta for sua concentração menor será sua capacidade de extração. Assim iniciou-se os estudos para otimizar o processo de extração, definindo com base nos resultados do planejamento fracionário (Tabela 6), novas faixas de temperatura, concentração do solvente e agitação.

Capacidade Antioxidante

A capacidade dos extratos obtidos com o planejamento fatorial fracionário de sequestrar o radical DPPH foi mensurada (Tabela 6). Os extratos metanólicos, exceto os dos ensaios 01, 02, 03 e 05, atingiram valores superiores a 70%, podendo ser considerada uma forte ação antioxidante, segundo a classificação estabelecida por Melo et al. (2008). Estes autores classificam a ação antioxidante em forte, intermediária ou fraca quando o percentual de sequestro do radical DPPH atinge valores acima de 70%, entre 60 e 70% e abaixo de 50%, respectivamente. Para os extratos hidroacetônicos, exceto o do ensaio 5, apresentaram uma forte ação antioxidante ($>70\%$). Observa-se, também, que o menor

percentual de sequestro (57,43%) foi exibido pelo extrato que apresentou o menor teor de fenólicos totais ($710 \pm 33,94 \mu\text{g/ml}$) enquanto que o maior percentual (95,39%) foi atingido pelo extrato com níveis de fenólicos totais de $1.372,60 \pm 38,92 \mu\text{g/ml}$. Ao comparar a ação antioxidante dos extratos hidroacetônicos com a dos hidrometanólicos fica demonstrada a superioridade dos primeiros, exceto aqueles obtidos nas condições dos ensaios 3, 8 e 12.

Delineamento Composto Central Rotacional - DCCR

Considerando que as variáveis estudadas no processo de extração com metanol não influenciaram expressivamente na extração dos fenólicos, um novo planejamento foi realizado apenas para acetona com o objetivo de explorar um pouco mais a influência da temperatura e da agitação em uma nova faixa de estudo. O tempo foi fixado em 30 minutos, uma vez que o mesmo não apresentou influência significativa, tornando mais econômico o processo operacional para uma futura aplicação industrial. Para as novas condições do planejamento DCCR, os resultados das análises e a ANOVA estão apresentados nas Tabelas 9 e 10, respectivamente.

Tabela 9. Fenólicos totais e percentuais de sequestro do radical DPPH[•] de extratos hidroacetônicos da farinha de resíduo do pedúnculo de caju obtidos no delineamento composto central rotacional.

| Ensaio | Temperatura (°C) | Agitação (rpm) | Concentração solvente (%) | Teor de fenólicos (µg/ml) | DPPH (%) (1min.) |
|--------|------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|------------------|
| 1 | -1(30) | -1(150) | -1(55) | 1.722,35±102,99 | 84,94 |
| 2 | 1(45) | -1(150) | -1(55) | 1.732,47±30,35 | 86,56 |
| 3 | -1(30) | 1(250) | -1(55) | 1.704,80±38,16 | 86,84 |
| 4 | 1(45) | 1(250) | -1(55) | 1.668,85±72,56 | 87,36 |
| 5 | -1(30) | -1(150) | 1(75) | 1.304,60±16,62 | 74,11 |
| 6 | 1(45) | -1(150) | 1(75) | 1.286,72±57,10 | 73,31 |
| 7 | -1(30) | 1(250) | 1(75) | 1.249,10±54,11 | 71,78 |
| 8 | 1(45) | 1(250) | 1(75) | 1.281,13±112,97 | 77,66 |
| 9 | -1,68(25) | 0(200) | 0(65) | 1.469,68±77,59 | 81,90 |
| 10 | 1,68(50) | 0(200) | 0(65) | 1.626,42±29,09 | 82,30 |
| 11 | 0(37,5) | -1,68(117,5) | 0(65) | 1.553,80±46,03 | 83,72 |
| 12 | 0(37,5) | 1,68(282) | 0(65) | 1.590,00±30,93 | 87,63 |
| 13 | 0(37,5) | 0(200) | -1,68(48,2) | 1.709,12±37,17 | 87,88 |
| 14 | 0(37,5) | 0(200) | 1,68(81,2) | 1.125,65±39,94 | 77,04 |
| 15 | 0(37,5) | 0(200) | 0(65) | 1.569,55±87,56 | 87,79 |
| 16 | 0(37,5) | 0(200) | 0(65) | 1.624,97±41,16 | 86,43 |
| 17 | 0(37,5) | 0(200) | 0(65) | 1.632,98±44,16 | 85,20 |

A análise dos resultados revelam que as melhores condições para extração de fenólicos correspondem as dos ensaios 1 (1.722,35±102,99 µg/ml) e 2 (1.732,47±30,35 µg/ml), que se diferenciaram entre si apenas pelo valor da temperatura. Na Tabela 10 evidencia-se pelo valor do teste F que os resultados são significativos e preditivos, com confiabilidade de 96% ($R^2=0,96143$) e p-valor < 0,005. Sendo representado pelo modelo (Equação 01) e superfícies de resposta (Figura 1)

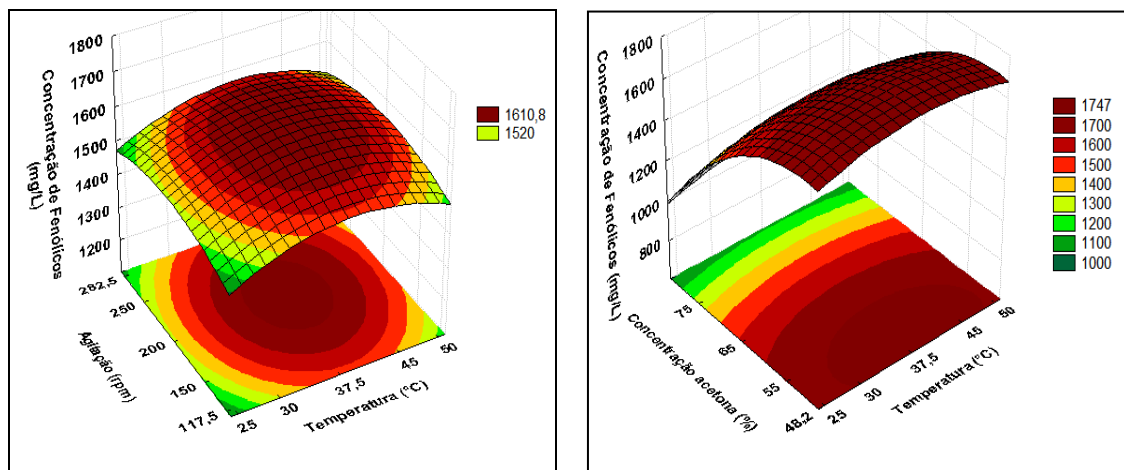
$$[\text{Teor de Fenólicos}] = 1.609,99 - 196,839[\text{acetona}] - 70,652[\text{acetona}]^2 \quad (\text{Equação 1})$$

Tabela 10 – ANOVA para a resposta teor de fenólicos com solvente acetona

| | Soma Quadrática | Graus de liberdade | Média Quadrática | Teste F | R ² | p |
|-----------|--------------------|-----------------------|---------------------|---------|----------------|---------|
| Regressão | 587499,1 | 9 | 65277,68 | 19,39 | 0,96143 | 0,00001 |
| Residual | 23567,4 | 7 | 3366,77 | | | |
| Total | 611066,5 | 16 | | | | |

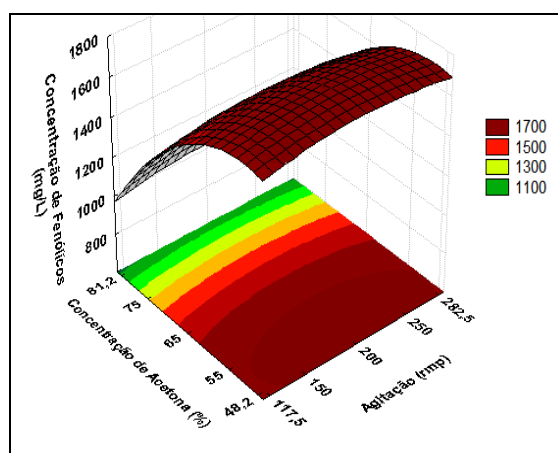
$$F_{0,05; 9;7} = 6,72$$

Na Figura 1 estão apresentadas às superfícies de resposta referentes ao teor de fenólicos em função da agitação e temperatura (Figura 1a), da concentração de acetona e temperatura (Figura 1b) e da concentração de acetona e agitação (Figura 1c). Pode-se observar que a temperatura não apresentou influência na extração (Figura 1a e 1b). Na Figura 1a, a extração atingiu sua concentração máxima quando a temperatura fica próxima de 37,5°C, com agitação em torno de 200 rpm. Na Figura 1b, constata-se que na temperatura ótima de 37,5°C para obter altos valores de extração, a concentração da acetona pode ser em torno de 48%, condição comprovada, também, na Figura 1c, na qual se evidencia que os maiores teores foram obtidos com concentração em torno de 50%. Sendo assim, pode-se observar que a concentração da acetona é um parâmetro de forte influência no processo de extração, ficando limitada a uma faixa de concentração em torno dos 50%, quando combinada com uma temperatura na faixa de 30 e 45°C e agitação na faixa de 150 a 250 rpm. Estes parâmetros tornam o processo bastante viável economicamente, por trabalhar com baixas temperaturas e agitação moderadas, quando se deseja realizar uma aplicação industrial. Assim, o extrato obtido empregando acetona a 55%, a temperatura de 30°C e a agitação e 150rpm foi utilizado para os demais ensaios.



(a)

(b)



(c)

Figura 1. Superfícies de respostas para teor de fenólicos em função da (a) agitação X temperatura, (b) concentração de acetona X temperatura e (c) concentração de acetona X agitação.

Capacidade Antioxidante

Após a quantificação dos compostos fenólicos foi realizada análises para mensurar a capacidade antioxidante dos extratos obtidos com ensaios do DCCR (Tabela 9). Os extratos de todos os ensaios, ao alcançarem 1 minuto de reação, exibiram uma forte capacidade de sequestro (>70%). Demonstrando que os resíduos do pedúnculo de caju ainda contêm quantidades consideráveis de compostos fenólicos e apresenta uma forte ação antioxidante frente ao radical DPPH, o que permite vislumbrar a sua utilização como fonte de antioxidantes naturais.

Extração dos compostos Fenólicos por processo sequencial

A extração de polifenóis está relacionada à polaridade do composto que é dependente de sua estrutura química. Em função desta característica peculiar do fitoquímico recomenda-se a utilização de mais de um solvente extrator, de polaridade diversificada, com o objetivo de obter extratos com maior teor de fenólicos (ZAO et al., 2006; MARKON et al, 2007; JAYAPRAKASHA et al., 2008). Levando em consideração esta recomendação foi realizada a extração sequencial empregando acetona, seguida pelo metanol, utilizando as condições de processo indicadas pelo planejamento experimental para cada solvente. Os dados apresentados na Figura 2 revelam que o tempo não influenciou na quantidade de fenólicos extraída, reafirmando que o tempo de 30 minutos é suficiente para o processo de extração. Evidencia-se, também, que os polifenóis são quase que totalmente extraídos com acetona 55%, primeiro solvente extrator, (em média 1800µg/mL), e uma quantidade muito pequena (em média 150µg/mL) é extraída com o segundo solvente.

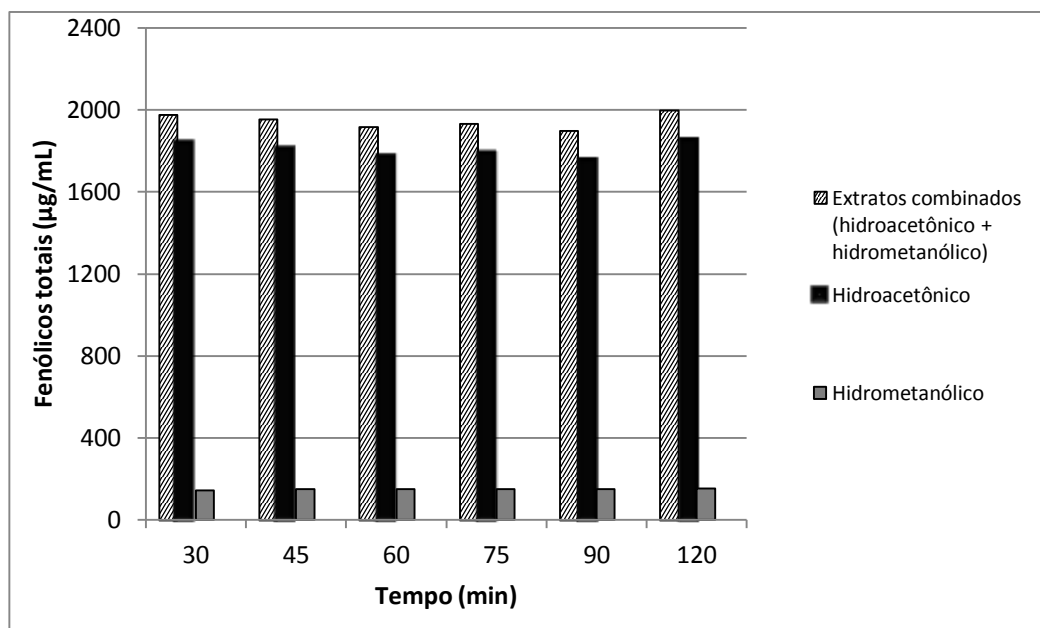


Figura 2. Teor de fenólicos em extratos obtidos por processo de extração sequencial (acetona 55%; 30°C, 150rpm; seguido por metanol 50%; 50°C, 100rpm) (total: quantidade extraída com acetona 55% somada a quantidade de fenólicos extraída em metanol 50%).

Considerando que a ação antioxidante pode está relacionada à concentração de fenólicos, três diferentes concentrações do extrato combinado (hidroacetônico e hidrometanólicos), atingindo concentração final de fenólicos totais de 20; 40 e 60 $\mu\text{g EAG. mL}^{-1}$, foram submetidos ao ensaio da capacidade de sequestro do radical DPPH. Na Figura 3 evidencia-se que o aumento da concentração de fenólicos promoveu uma leve redução da ação antioxidante, porém o percentual de sequestro, independente, da concentração de fenólicos, aos 5 minutos da reação foi superior a 90%.

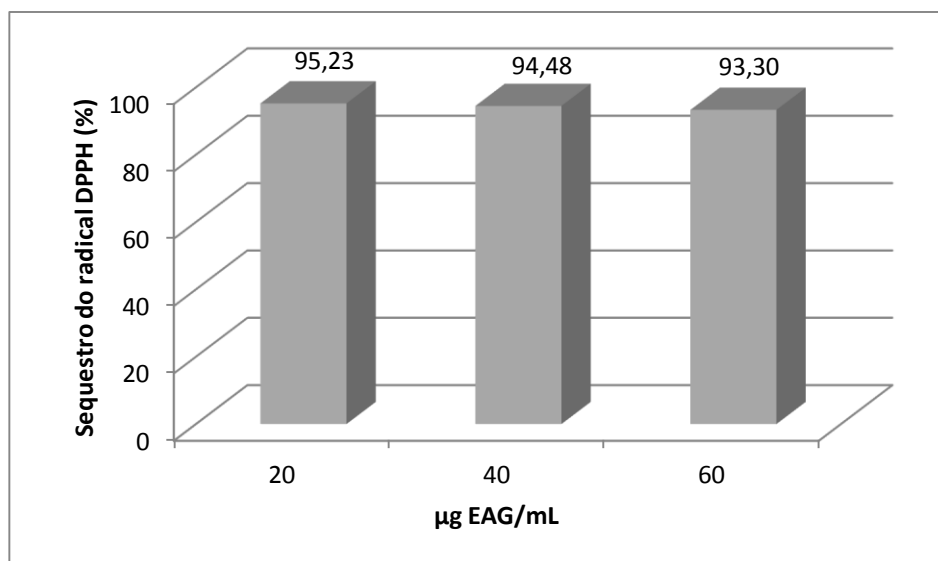


Figura 3. Capacidade do extrato da farinha do resíduo do pedúnculo do caju (hidroacetônico e hidrometanólico combinados) de sequestro do radical DPPH* (percentual atingido aos 5 minutos da reação, empregando extratos com três diferentes concentrações de fenólicos totais).

A correlação entre a quantidade de fenólicos e a capacidade antioxidante nem sempre é positiva. Alguns autores têm demonstrado de forma conclusiva que existe uma forte relação positiva entre o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante de frutas e hortaliças (SANTOS, 2008; KUSKOSKI, 2006; ROESLER, 2007), enquanto que outros autores não têm observado esta correlação (MELO et al., 2006; ISMAIL, 2004; WU, 2004). A estrutura química do composto bioativo é um dos fatores que influencia a eficácia da ação antioxidante. A posição e o número de hidroxilas presentes na molécula dos polifenóis são relevantes para esta atividade. Acredita-se que a orto-dihidroxilação contribui marcadamente para a atividade antioxidante do composto (SHAHIDI, JANITHA; WANASUNDARA, 1992). Logo, a atividade antioxidante de um extrato não pode ser explicada apenas com base em seu teor de fenólicos totais.

CONCLUSÕES

O resíduo agroindustrial do pedúnculo de caju apresenta em sua composição macronutrientes em quantidade relevantes, além de fitoquímicos com reconhecida propriedade antioxidante. Dentre os fitoquímicos presentes neste resíduo destacam-se os compostos fenólicos os quais se encontram em maior proporção. Estes fitoquímicos

podem ser eficientemente extraídos em acetona (55%), empregando tempo de extração de 30 minutos sob agitação de 150rpm e temperatura de 30°C. O extrato hidroacetônico obtido nestas condições apresenta uma forte capacidade de sequestro do radical DPPH (>80%). Percentual de sequestro superior a 90% foi conseguido com a combinação extratos hidroacetônico e hidrometanólico. Evidencia-se, portanto, que o resíduo do pedúnculo de caju pode ser considerado uma fonte potencial de compostos bioativos de elevada capacidade antioxidante, com possibilidade de aplicação em alimentos em substituição total e/ou parcial aos antioxidantes sintéticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.R.A. **Qualidade e atividade antioxidante total de pendúculos de clones comerciais de cajueiro anão precoce**. 2007. 114f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos.

AJILA, C.M.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, V.J.S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian Mango varieties. **Food Chemistry**, London 102, 1006-1011. 2007.

ALCÂNTARA, S. R.; ALMEIDA, F.A.C.; SILVA, F.L.H. Emprego do bagaço seco do pedúnculo de caju para posterior utilização em um processo de fermentação semi-sólida. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 9, n.2, p. 137-142, 2007.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists International, 2005.

ARAÚJO, Z.B. **Estudo de níveis de substituição do milho pelo pseudofruto desidratado do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) em rações para frangos de corte**. 1987. 50f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

ARAÚJO, C.R. **Cascas liofilizadas de manga tommy atkins: teor de fitoquímicos bioativos e potencial antioxidante**. 2012. 131f. Dissertação (Mestrado em Ciência e

Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

BARTHOLO, G. F. Perdas e qualidade preocupam. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, V.17, n. 179, p.3. 1994.

BIRCH, A. E.; FENNER, G. P.; WATKINS, R.; BAYD, L. C. Antioxidant proprieties of evening primrose sud extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, V.49, p.4502-4507, 2001.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Techonologie**, London, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

CAETANO, A.C.S.; MELO, E.A.; LIMA, V.L.A.G.; MACIEL, M.I.S.M; ARAÚJO, C.R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de Acerola. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Campinas, V.12, n.2,p.155-160,2009.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Laminaceae species. **Food Chemistry**, Washington, v. 93, p. 223-226, 2005.

FAO – FAOSTAT. Disponível em:< <http://faostat.fao.org/site/567/desktopdefault.aspx?pageid=567>> Acesso em: 29 de Abril de 2011.

IBGE - Banco de dados agregados. Disponível em:<www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=18&i=p&c=1618>. Acesso em: 29 de Abril de 2011.

ISMAIL, A.; MARJAN, Z. M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, Washington, v. 87, n. 4, p. 581-586, 2004

JAYAPRAKASHA, G. K., GIRENNAVAR, B., PATIL, B. S. Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4484–4494, 2008.

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

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n.4, p.1390-1393, 1997.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.

LEES, D. H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigments analyses in cranberries. **HortScience**, v. 7. N. 1, p. 83-84, 1972.

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

MATIAS, M.F.O.; OLIVEIRA, E.L.; GERTRUDES, E.; MAGALHÃES, M.A. Use of fibres obtained from the cashew (*Anacardium occidentale, L*) and guava (*Psidium guajava*) fruits for enrichment of food products. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.48, p.143-150, 2005.

MARKOM, M., HASAN, M., RAMLI, W., DAUD, W., SINGH, S., & JAHIM, J. M. Extraction of hydrosable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn. Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, p. 487–496, 2007.

MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G. de; MACIEL, M. I. S.; CAETANO, A. C. da S.; LEAL, F. L. L. Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2006, 9, p. 89-94.

MELO, E. A.; MACIEL, M.I; LIMA, V.L.A.G; LEAL, F.L.L; CAETANO, A.C.S; NASCIMENTO, R.J Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.A.G.L.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v.44, n.2, p.193-201, 2008.

MONTENEGRO, A. A.T.; CARBAJAL, A. C. R.; MESQUITA, A. L. M. Cultivo do Cajueiro: Sistema de Produção. In: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Caju/cultivodoCajueiro/index.htm>>. Acesso em 29 de Mai de 2011.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H. NÚÑEZ, M.J.; PARAJÁ, J.C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, Washington, n.72, p. 145-171, 2001.

NASCIMENTO, R. J.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.2, p.209-216.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.; Extraction and analysis of phenolics in food, **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.1054, p. 95–111. 2004.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; BARROS, M.P.; MANO, C.M.; GOULART, M.O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, Washington, v.15, n.2, p. 469-475, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 5036-5040, 2005.

PINHO, L.X.; AFONSO, M.R.A.; CARIOCA, J.O.B.; COSTA, J.M.C. RYBKA, A.C.P. Desidratação e aproveitamento de resíduo de pendúculo de caju como adição de fibra na elaboração de hambúrguer. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.22, n.4, p.571-576, 2011.

RODRIGUES, M.I.; LEMMA, A.F. Planejamento de experimentos e otimização de processos. 2ª Ed. São Paulo: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A Guide to Carotenoids Analysis in Food**. Washington: ILSI Press, 1999.

ROESLER, R.; CATHARINO, R.R.; MALTA, L.G; ERBELIN, M.N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, Washington, v. 104, n. 3, p. 1048-1054, 2007.

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

SANTOS, G. M.; ARRAES, G.M.; SOUSA, M.P.H; COSTA, J.M.C; WILANE, R.F.; MATIAS, G.P. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericano de Nutrición**, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. Antioxidat capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, Washington, v.94, n.3, p. 442-447,2006.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **CRC-Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SULAIMAN, S.F.; SAJAK, A.A.B.; OOI,K.L.;SUPRIATNO; SEOW,E.M. Effect of solvents in extractinh polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**. V.24, n.4-5, p.506-515, 2011.

TIITTO-JULKUNEN, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the analysis of certain phenolics. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v.33,p.213-217, 1985.

TOCHINI, R.P. Aproveitamento da polpa de caju para produção de ração animal. **Jornal Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, p.17-22, 1985.

UCHÔA, A. M. A. **Adição de pós alimentícios obtidos de resíduos de frutas tropicais na formulação de biscoitos**. 2007. 91f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Ceará, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos.

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

WU, X. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 12, p. 4026-4037, 2004.

ZAO, H.; DONG, J.; LU, J.; CHEN, J.; LI, Y.; SHAN, L.; LIN, Y.; FAN, W.; GU, G. Effect of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in Barley (*Hordeum vulgare* L). **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.7277-7286, 2006.

6. CAPÍTULO II

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO AGRO-INDUSTRIAL DO PEDÚNCULO DE CAJU

RESUMO

Considerando que os resíduos agroindustriais apresentam-se como fonte de compostos biologicamente ativos, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante da farinha do resíduo do pedúnculo do caju (bagaço do pedúnculo) oriundo da indústria processadora de polpa de fruta congelada. Extratos hidroacetônico e hidrometanólico, obtidos por processo de extração sequencial, foram combinados, para avaliar quanto a sua capacidade de sequestrar radical livre (DPPH[•] e ABTS^{•+}) em sistema modelo e em sistema lipídico (oxidação acoplada do β -caroteno/ ácido linoléico). O extrato combinado apresentou uma boa eficiência frente ao radical DPPH[•] (EC₅₀ de 57,38 e T_{EC50} <0,5 minutos), forte capacidade de sequestrar este radical (80,74 a 93,2%) e correlação positiva entre o teor de fenólicos totais e a capacidade de sequestro do radical DPPH, além de expressiva capacidade de sequestro do ABTS^{•+} (7.506,49 μ mol TEAC/g). Em sistema β -caroteno/ ácido linoléico exibiu uma ação antioxidante intermediária (62,75%), suficiente para bloquear o início da reação de oxidação (F1<1), porém ineficaz na fase de propagação (F2>1). Estes resultados evidenciam que o resíduo do pedúnculo de caju apresenta potencial para ser empregado como antioxidante no desenvolvimento de novos produtos ou constituir matéria prima para extração de compostos antioxidantes a serem aplicados em alimentos com vistas a deter a oxidação lipídica.

Palavras-Chave: Atividade antioxidante; DPPH; ABTS; bagaço do pedúnculo.

ABSTRACT

Considering that agro industrial residues present in its constitution bioactive compounds, many of them with antioxidant action, this study aimed to evaluate the antioxidant potential of the waste cashew arising from the processing industry of frozen fruit pulp. Hydroacetic and hydromethanolic extracts, obtained by sequential extraction process, were combined and subjected to antioxidant assays for free radical scavenging in a model system (DPPH and ABTS) and antioxidant assays in lipid systems (coupled oxidation of B-carotene/linoleic acid). The extracts exhibited good efficiency against DPPH (EC_{50} of 57.38 and $T_{EC50} < 0.5$ minutes), strong scavenging this radical (80.74 to 93.2%) and positive correlation between the total phenolic content and DPPH[•] scavenging capacity, and expressive ABTS^{•+} scavenging ability (7506.49 TEAC mol / g). In system β -carotene / linoleic acid the extract exhibited antioxidant action intermediate (62.75%), proving to be efficient in blocking the start of the oxidation reaction ($F1 < 1$), but the propagation phase was not as effective ($F2 > 1$). Based on these results, it is evident that the residue of cashew exhibits a good antioxidant potential with the prospect of being employed in the development of new products or provide raw material for extraction of antioxidant compounds to be applied in food in order to stop the lipid oxidation.

Keywords: antioxidant activity, DPPH, ABTS; peduncle bagasse

INTRODUÇÃO

O caju (*anacardium occidentale*), originário das regiões Norte e Nordeste do Brasil, é um dos frutos bastante consumido nestas regiões. É composto pela castanha, fruto propriamente dito, e pelo pedúnculo, considerado o pseudofruto. O pedúnculo é suculento, macio e pode ser encontrado nas cores amarela, laranja ou vermelha. O caju é integralmente aproveitado. A agroindústria de processamento e beneficiamento utiliza principalmente a castanha, produto de elevado valor comercial, enquanto que o pseudofruto, além de ser destinado ao consumo *in natura*, é utilizado na produção industrial de suco, doce, polpa congelada, bebidas, entre outros produtos (MAIA et al., 2004; ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003).

O processamento do pseudofruto origina uma grande quantidade de resíduo sólido que é constituído pelo bagaço do pedúnculo. Geralmente, os resíduos resultantes do processamento de vegetais contêm quantidades significativas de compostos biologicamente ativos, tornando-os fonte potencial de antioxidante natural que além de constituir uma alternativa econômica, reduz o impacto ambiental (OLIVEIRA et al., 2009). Entre os compostos presentes nesses resíduos encontram-se os compostos fenólicos, substâncias que apresentam grupos benzênicos e hidroxilas como substituintes. A posição e a quantidade destes substituintes resultam em uma variedade de compostos que em função de suas estruturas químicas estão reunidos em classes, dentre as quais se destacam a dos flavonoides e dos ácidos fenólicos (GARCIA-SALAS, 2010). A estrutura química dos compostos fenólicos lhes confere propriedade antioxidante uma vez que proporciona a habilidade de doar hidrogênio ou elétrons a radicais livres, transformando-se, em função da ressonância do anel aromático, em radicais intermediários estáveis (McCLEMENTS; DECKER, 2010). Podem, ainda, ligar-se a íons metálicos evitando que estes íons participem da etapa de iniciação da reação de oxidação (CHOE; MIN, 2009).

Com vistas a reduzir a velocidade das reações de oxidação de óleos e gorduras, evitando o desenvolvimento de sabores e odores indesejáveis nos alimentos, assegurando sua qualidade e segurança nutricional, a indústria de alimentos faz uso de antioxidantes sintéticos. Entretanto, estudos toxicológicos têm demonstrado que estes antioxidantes podem promover efeitos nocivos à saúde (BOTTERWEEK et al., 2000). Desta forma, a busca por antioxidante natural que possam substituir parcial ou

totalmente os sintéticos tem despertado interesse da comunidade científica. Neste contexto, surgem os resíduos agroindustriais como fontes substanciais de compostos bioativos que precisam ser investigadas quanto a sua composição e capacidade antioxidante. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante da farinha do resíduo do caju (bagaço do pedúnculo) oriundo da indústria processadora de polpa de fruta congelada.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Os resíduos de caju (bagaço do pedúnculo) foram cedidos por uma indústria produtora de polpa congelada de frutas, localizada na cidade de Recife/PE. Este material foi coletado diretamente da linha de produção e, imediatamente, transportado para Laboratório de Análises Físico-químicas de Alimentos, do Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE, onde foram submetidos à secagem, em estufa com circulação de ar (50°C), até atingir umidade inferior a 10%. Em seguida, os resíduos desidratados foram triturados, em moinho de faca (Tecnal 631/2), passados em tamis de 80 mesh para obtenção de uma farinha de granulometria uniforme, que foi acondicionada em sacos de polietileno de alta densidade, e mantida sob congelamento (-20°C).

Métodos

Extratos foram obtidos empregando processo de extração sequencial, iniciando com acetona a 55% , em seguida metanol a 50%. A farinha do resíduo (5g) foi mantida sob agitação (150 rpm), no primeiro solvente extrator, por 30 min, a 30°C, e em seguida, centrifugado a 4000rpm. O sobrenadante foi coletado e o precipitado ressuspense no segundo solvente e submetido à agitação (100 rpm) por mais 30 min, a 50°C, para em seguida ser centrifugado a 4000 rpm. Os sobrenadantes foram concentrados sob pressão reduzida a 40° C, e o volume final aferido para 50 mL. O teor de fenólicos totais foi quantificado espectrofotometricamente segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999), e o resultado expresso em µg em equivalente de ácido gálico por mL do extrato (mg EAG. mL⁻¹).

Determinação do Potencial Antioxidante

Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH[•])

Os extratos hidroacetônicos e hidrometanólicos foram combinados e submetidos à determinação da capacidade de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH[•]), conforme Brand-Williams et al.(1995), modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998). Diferentes concentrações do extrato foram adicionadas à solução de DPPH em metanol (0,1M), atingindo a concentração final de 0,4; 0,8 e 1,2 g de farinha do resíduo. L⁻¹, foram lidos a 515 nm, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650 PC) até a reação atingir o platô. A concentração do DPPH[•] remanescente no meio da reação foi calculada a partir da curva padrão do radical DPPH[•], e o percentual de DPPH[•] remanescente (DPPH_{REM}%) de cada concentração do extrato foi calculado utilizando a equação 1:

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = \text{DPPH}_t / \text{DPPH}_{T=0} \times 100 \quad (1)$$

Onde: DPPH_t é a concentração do radical DPPH no tempo em que a reação atingiu o platô; DPPH_{T=0} é concentração inicial do radical DPPH (tempo 0 da reação)

A concentração do extrato capaz de diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH[•] (EC₅₀) foi calculada a partir do gráfico da concentração da amostra (g da farinha. g DPPH⁻¹) versus DPPH_{REM}%. A eficiência antirradical (EA) foi calculada considerando o valor de EC₅₀ e o tempo em que foi atingido o EC₅₀ (T_{EC50}), conforme a equação 2:

$$\text{EA} = 1/\text{EC}_{50} \cdot \text{T}_{\text{EC}50} \quad (2)$$

De acordo com o valor do T_{EC50} e do EA, o comportamento cinético do extrato foi classificado em rápido (T_{EC50}<5 minutos), intermediário (T_{EC50} = 5 a 30 minutos) ou lento (T_{EC} > 30 minutos), a eficiência antirradical em baixa (EA<1), média (EA>1 e ≤5), em alta (EA>5 e ≤ 10) ou super alta (EA>10) (SÁNCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURA-CALIXTO, 1998).

Capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+}

A capacidade de sequestrar o radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbezotiazolona-6-ácido sulfônico ABTS^{•+}) foi determinado segundo método descrito por RE et al. (1999). O

radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS (7mM) com 2,45 mM de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16 h. Em seguida, a solução do radical foi diluída em etanol até obter uma medida de absorvância de $0,7 \pm 0,05$, em comprimento de onda de 734nm. Os extratos hidroacetônico e hidrometanólico combinados foram adicionados à solução do ABTS^{•+}, atingindo a concentração final de 10; 50 e 100 mg de farinha do resíduo. L⁻¹ e a absorvância registrada, após 6 minutos, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC). A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{Mol TEAC.g}^{-1}$ de resíduo).

Co-oxidação β -caroteno/ Ácido Linoléico

A atividade antioxidante dos extratos hidroacetônico e hidrometanólico combinados foi determinada utilizando o método de Marco (1968) e modificado por Hammerschmidt e Pratt (1978), como descrito a seguir: A solução clorofórmica a 1,6 mg/ml de β -caroteno foi colocada em balão de fundo redondo, contendo 80mg de ácido linoleico e 800 mg do emulsificante Tween 20. Após a remoção do clorofórmio, em evaporador rotatório a 40°C, 200 mL de água destilada foram adicionados sob agitação vigorosa. Alíquotas (5 mL) desta emulsão foram transferidas para uma série de tubos de ensaio contendo 0,5 mL do extrato, atingindo a concentração final de 100 μg de fenólicos totais.mL⁻¹. Em seguida os tubos foram colocados em banho-maria a 50°C, durante 105 minutos, e a absorvância mensurada a 470nm, nos intervalos de tempo de 0, 2, 10, 15, 20, 30, 45, 65, 75, 90 e 105 minutos. A atividade antioxidante foi expressa como percentual de inibição da oxidação, calculada em relação a 100% da oxidação do controle (sem antioxidante), conforme expressão abaixo:

$$\% \text{inibição} = \frac{\text{Taxa de degradação do controle} - \text{Taxa de degradação da amostra}}{\text{Taxa de degradação do controle}} \times 100$$

Estudo cinético da atividade antioxidante no sistema da co-oxidação β -caroteno/ Ácido Linoléico

A eficiência da atividade antioxidante do extrato determinada a partir da relação da tangente das curvas cinéticas do extrato e do controle (sem adição de antioxidante), em duas partes da curva, entre 15 e 45 minutos e entre 75 e 105 minutos, segundo

metodologia descrita por Silva, Nascimento e Moreira (2007). Na primeira parte da curva, o valor obtido (F1) indica a eficiência do antioxidante em bloquear a reação em cadeia através da interação com os radicais peróxidos, enquanto que na segunda parte da curva o valor obtido (F2) indica a eficiência do antioxidante em participar de outras reações durante o processo oxidativo, como por exemplo, a decomposição dos hidroperóxidos, produzindo espécies radicalares que aceleram a oxidação no sistema.

TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todas as determinações foram realizadas em triplicatas, conduzidas ao abrigo da luz, e os resultados expressos em média e desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade antioxidante de um alimento é resultante da mistura de vários compostos bioativos os quais atuam por diferentes mecanismos de ação, havendo, inclusive, a possibilidade de sinergismos entre eles. Logo, é recomendado combinar mais de um método para determinar sua capacidade antioxidante *in vitro* (FRANKEL; MEYER, 2000; LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007; PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008). O extrato da farinha do bagaço do pedúnculo do caju não foi purificado, nem seus compostos bioativos isolados, portanto, estava constituído por vários fitoquímicos que foram solubilizados pelos solventes extratores, dentre eles diversos fenólicos de estrutura química variada. Sendo assim, o extrato hidroacetônico combinado com o hidrometanólico, com teor médio de fenólicos totais de $987,82 \pm 12,05 \mu\text{g EAG/ mL}$, teve sua ação antioxidante avaliada frente à capacidade de capturar radicais livres (DPPH; ABTS) e em sistemas lipídicos (oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoléico).

Capacidade de sequestrar radical

A capacidade do antioxidante de capturar o radical DPPH baseia-se na transferência de hidrogênio e/ou de elétrons de um composto antioxidante para o radical DPPH[•] com conseqüente perda da coloração púrpura da solução do radical DPPH. O grau desta descoloração, monitorado espectrofotometricamente, evidencia a habilidade do(s) composto(s) de sequestrar o radical (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; CRAFT et al., 2012). A capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) é um ensaio

baseado na capacidade do antioxidante de capturar o radical ABTS por reação de transferência de elétron e/ou de hidrogênio (CRAFT et al., 2012). Segundo estes autores, assim como acontece no ensaio do DPPH, a interação com o meio, o tamanho, a polaridade e a acidez do grupo hidroxil do fenólico vai determinar se o mecanismo predominante será o de transferência de hidrogênio ou de elétron.

A farinha do resíduo do pedúnculo de caju apresentou valor EC_{50} relativamente baixo (Tabela 1). Considerando que a maior eficiência em sequestrar o radical DPPH• é inversamente proporcional ao valor de EC_{50} , evidencia-se a superioridade deste material quando se compara com os valores de EC_{50} do pedúnculo liofilizado de caju (906 g/g de DPPH) e de outros frutos, como mangaba (890 g/g de DPPH), açaí (598 g/g de DPPH) e jaboticaba (138 g/g de DPPH) (RUFINO et al., 2010), podendo ser considerado entre os resíduos apresentados como o mais eficaz. Segundo Sánchez-Moreno; Larrauri; Saura-Calixto (1998), o antioxidante é considerado de ação rápida quando atinge o EC_{50} em tempo inferior a 5 minutos. A análise do comportamento cinético revela que os fitoquímicos bioativos presentes na farinha do resíduo do pedúnculo de caju atuam rapidamente na captura do radical DPPH• ($T_{EC50} = < 0,5$ minutos). Esta característica é importante tendo em vista que se espera que o antioxidante atue rapidamente, impedindo-o de reagir com substâncias ou estruturas celulares oxidáveis (IMEH; KHOKBAR, 2002).

Outros resíduos agroindustriais apresentaram comportamento cinético semelhante ao da farinha do resíduo de caju, a exemplo do resíduo de goiaba com T_{EC50} de 0,71 minutos (NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010) e ao resíduo de acerola com T_{EC50} de 0,8 minutos (CAETANO et al., 2009). A farinha da casca de cajá-umbu, extratos hidroacetônico e hidrometanólico, com T_{EC50} de 2,45 e 2,87 minutos, respectivamente (SILVA et al., 2012), também foram consideradas de ação rápida

Tabela 1. Potencial antioxidante da farinha do resíduo do pedúnculo de caju frente ao radical DPPH• (Valores do EC_{50} , T_{EC50} e classificação cinética) e ao radical ABTS•+ (TEAC).

| DPPH | | TEAC | |
|------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------|
| EC_{50} (g/gDPPH) | T_{EC50} (min.) | Classificação cinética | (μ mol /g) |
| 57,38±0,18 | < 0,5 | Rápido | 7.506,49±640,36 |

Os valores referem-se a media de três determinações \pm desvio padrão. EC_{50} =concentração do extrato eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH•; T_{EC50} = tempo necessário para atingir o valor de EC_{50} ; TEAC= atividade antioxidante em equivalente Trolox (6 minutos).

A capacidade do extrato da farinha do resíduo do pedúnculo de caju de sequestrar o radical ABTS^{•+} (Tabela 1), também, foi superior a do pedúnculo liofilizado do caju (79,4 $\mu\text{mol TEAC/g}$), bem como a da jaboticaba (317 $\mu\text{mol TEAC/g}$), da acerola (953 $\mu\text{mol TEAC/g}$) e do camu-camu (1.237 $\mu\text{mol TEAC/g}$) relatadas por Rufino et al.(2010). O caju investigado por estes autores teve origem no Ceará e o extrato empregado no ensaio antioxidante foi obtido por sistema de extração sequencial, utilizando metanol a 50%, seguido por acetona 70%, permanecendo a amostra sob agitação por 60 minutos em cada um dos solventes. Portanto, o procedimento metodológico empregado, além da procedência da matéria prima, pode justificar o maior teor de fenólicos extraído e, conseqüentemente, a maior capacidade do extrato da farinha do bagaço de caju deste estudo de sequestrar tanto o radical DPPH• como o ABTS•+.

Capacidade de sequestrar o radical ABTS•+ do extrato da farinha do bagaço do pedúnculo do caju, também, foi superior a de outros resíduos agroindustriais. Babbar et al. (2011) relatam que o valor de TEAC da semente de uva e de lichia foi de 42,23 $\mu\text{mol/g}$ e de 48,89 $\mu\text{mol/g}$, respectivamente. A película de amendoim apresentou capacidade de sequestro de 990,79 $\mu\text{mol TEAC/g}$ e o talo de beterraba 121,48 $\mu\text{mol TEAC/g}$ (BERGAMASHI, 2010). Sementes de goiaba com 875,79 $\mu\text{mol TEAC/g}$ (NASCIMENTO, ARAÚJO; MELO, 2010) e o resíduo da acerola com 1.445,1 $\mu\text{mol TEAC/g}$ (CAETANO et al., 2009) foram outros resíduos com capacidade de sequestro inferior a da farinha do bagaço do pedúnculo do caju.

A capacidade de sequestro do radical DPPH• também foi expressa em percentual de sequestro (Figura 1) para diferentes concentrações de farinha, utilizando as mesmas condições empregadas na determinação do EC₅₀. Observa-se que em todas as concentrações a capacidade de sequestro foi superior a 80%, considerada forte, segundo a classificação estabelecida por Melo et al.(2008). Para estes autores, a capacidade de sequestro pode ser considerada forte quando o percentual de sequestro atingir valores acima de 70 %, moderada entre 70 e 50% e fraca abaixo de 50%. O percentual de sequestro da farinha do bagaço do caju foi semelhante ao dos resíduos agroindustriais da uva, de diversas variedades (Moscato 94,91% e Verdejo 93,45%), e ao da goiaba (88,07%), porém superior ao do tomate (66,81%) relatados por Melo et al. (2011). Outros resíduos também apresentaram capacidade de sequestro semelhante ao da

farinha do bagaço do caju, a película de amendoim (96,55%), casca de maracujá (89,67%) e talo de beterraba (89,20%) (BERGAMASHI, 2010).

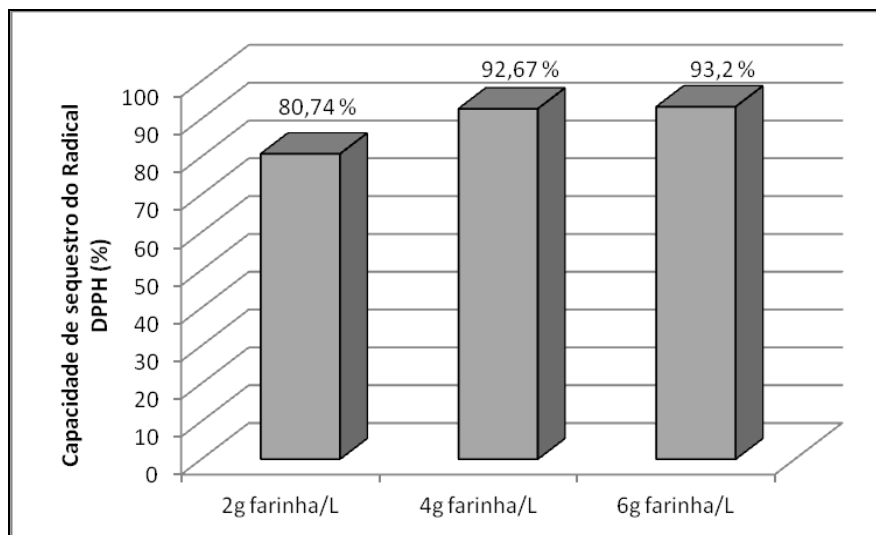


Figura 1. Capacidade de sequestro do radical DPPH (%) da farinha do resíduo do pedúnculo do caju no 1º minuto da reação

Além da presença nos extratos de outros fitoquímicos, a estrutura química do componente ativo tem influência sobre a eficácia do antioxidante natural, uma vez que a posição e o número de hidroxilas presentes na molécula dos polifenóis é um fator relevante para esta atividade. Assim, evidencia-se que o resíduo agroindustrial do caju (bagaço), ainda, contém compostos bioativos que exibem ação antioxidante, relativamente alta, frente aos radicais DPPH• e ABTS•+.

Capacidade antioxidante em sistema lipídico

O método da co-oxidação β -caroteno/ácido linoléico é baseado na habilidade do antioxidante em inibir a descoloração do β -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoléico. Este método é amplamente utilizado nos laboratórios de todo o mundo, uma vez que não são necessárias altas temperaturas, assim a capacidade antioxidante dos extratos de vegetais termo-sensíveis pode ser determinada e avaliada qualitativamente (HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2005).

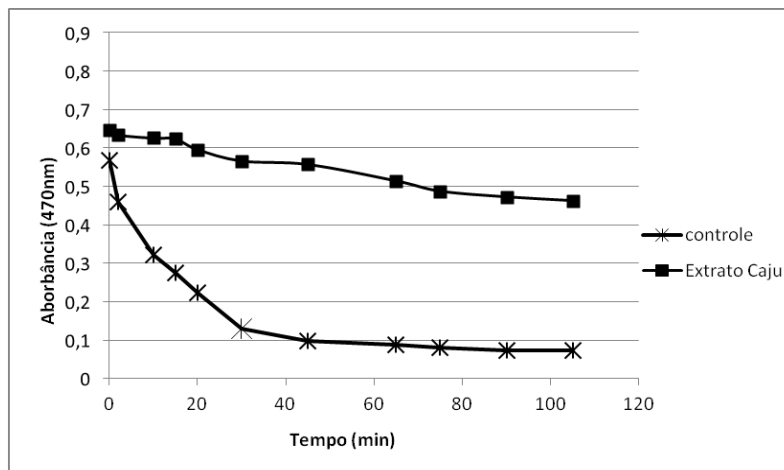


Figura 2. Cinética da ação antioxidante da combinação dos extratos acetônico e metanólico (1:1) da farinha do resíduo de caju, em sistema de co-oxidação β - caroteno/ácido linoléico (concentração final de 100 μ g de fenólicos totais/ mL).

No gráfico apresentado na Figura 2 observa-se decaimento da densidade ótica do extrato da farinha do bagaço do caju, atingindo ao final do tempo de reação (105 min) 62,75% de inibição da oxidação (Tabela 2). Segundo a classificação estabelecida por Melo et al. (2008) o extrato do bagaço do pedúnculo do caju configura-se com ação antioxidante intermediária. Brozine et al. (2007) relataram que os extratos aquoso e alcoólico do bagaço de caju, em diferentes concentrações, apresentaram percentuais de inibição de 17 a 33% e 32 a 50%, respectivamente, inferiores, portanto, ao deste estudo. Para diversas frutas tropicais liofilizadas, Rufino et al. (2010) reportam percentual de inibição de oxidação também inferior ao da farinha do bagaço do caju. Neste estudo o pedúnculo do caju e a mangaba exibiram 44,6% e 34,7%, respectivamente, enquanto que o percentual de inibição da oxidação exibido pelo cajá, jaboticaba e umbu (84,9%; 90,6% e 79,3%, respectivamente) foi superior ao da farinha do bagaço do caju (62,75%). O Extrato hidroacetônico do resíduo de goiaba (sementes), também apresentou percentual de inibição (81,91%) superior ao do extrato da farinha do bagaço do caju, porém a ação antioxidante do extrato hidrometanólico desse resíduo foi mais baixa (38,92%) (NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010).

Tabela 2. Ação antioxidante em meio lipídico - sistema β -caroteno/ácido linoléico – do extrato da farinha do resíduo do pedúnculo do caju: percentual de inibição da oxidação e fatores cinéticos.

| Inibição da oxidação (%) | Fatores cinéticos | |
|--------------------------|-------------------|-----|
| | F1 | F2 |
| 62,75 \pm 4,18 | 0,38 | 4,2 |

Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (n=3); F1= relação entre as tangentes das curvas cinéticas entre 15 e 45 min; F2 = relação entre as tangentes das curvas cinéticas entre 75 e 105 min.

Para melhor entender o mecanismo de ação dos compostos bioativos presentes no extrato do resíduo agroindustrial de caju e mensurar a sua eficiência em meio lipídico, foram calculados a partir da relação da tangente das curvas cinéticas do extrato e do controle (sem adição de antioxidante), em duas partes da curva, entre 15 e 45 minutos e entre 75 e 105 minutos, os valores de F1 e de F2. Segundo Yanishlieva e Marinova (1995), o $F1 < 1$ revela a eficiência dos compostos em retardar ou inibir o processo oxidativo na etapa de iniciação da reação, e o $F2 < 1$ demonstra que o antioxidante atua eficientemente em uma etapa mais adiantada do processo, como a decomposição de hidroperóxidos e estabilização de compostos formados ao longo do processo de oxidação. Quanto menor o valor de F1, mais eficientes são os compostos da amostra em retardar ou inibir o processo oxidativo. O valor de F2 tende a ser maior que o do F1, porém para o desempenho do antioxidante ser satisfatório este valor não deve ser superior a 1.

A análise dos dados da Tabela 2 permitiu evidenciar que o extrato do resíduo de caju apresentou efetividade em bloquear a reação em cadeia na etapa de iniciação da oxidação uma vez que o F1 apresentou valor inferior a 1. Embora tenham apresentado eficiência no início da reação de oxidação, o desempenho não se manteve, o valor de F2 foi superior a 1, revelando que os compostos antioxidantes presentes participam de outras reações, formando espécies radicalares que aceleram o processo oxidativo do sistema, exibindo, portanto, uma atividade pró-oxidante na etapa de propagação da cadeia oxidativa.

O extrato do resíduo agroindustrial do caju deste estudo apresentou comportamento semelhante ao do extrato alcoólico do bagaço do caju analisado por Bronzini et al.(2007) e ao extrato acetônico do resíduo da goiaba descrito por

Nascimento, Araújo e Melo (2010). Esses dois extratos apresentaram valor de $F1 < 1$ (0,4 e 0,17, respectivamente) demonstrando sua eficiência na etapa inicial da oxidação, porém o $F2$ foi superior a 1 (3,0 e 1,9, respectivamente) revelando que a eficiência não se manteve na etapa de propagação da reação de oxidação.

CONCLUSÃO

O bagaço do pedúnculo do caju resultante do processamento para obtenção de polpa congelada contém detém compostos bioativos com propriedade antioxidante. Este material mostrou-se eficiente na captura dos radicais DPPH e ABTS. No entanto, em meio lipídico, a intensidade da ação foi considerada intermediária, demonstrando boa eficiência em bloquear o início da reação de oxidação ($F1 < 1$), porém este desempenho não se manteve na fase de propagação ($F2 > 1$). Frente a estes resultados, o resíduo de pedúnculo do caju pode ser apontado como fonte promissora de antioxidantes naturais, como perspectiva de ser empregado no desenvolvimento de novos produtos ou constituir matéria prima para extração de compostos antioxidantes a serem aplicados em alimentos com vistas a deter a oxidação lipídica. No entanto, se faz necessário desenvolver novos estudos para testar sua ação antioxidante em outros sistemas, inclusive em matrizes complexa como os alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acids from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 495-502, 2003.

BABBAR, N.; Oberoi, H.S.; Uppal, D.S.; Patil, R.T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, p. 391–396, 2011.

BERGAMASCHI, K.B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. 2010. 97f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Ciência.

BOTTERWECK, A.A.M.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R.A.; KLEINJANS, J. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer

risk: Results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology** v. 38: p.599-605, 2000.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BRONZINI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale L.*). **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v.27, p.902-908, 2007.

CAETANO, A.C.S.; MELO, E.A.; LIMA, V.L.A.G.; MACIEL, M.I.S.M; ARAÚJO, C.R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de Acerola. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Campinas, V.12, n.2, p.155-160, 2009.

CHOE, E.; MIN, D.B. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.8, p.345-358, 2009.

CRAFT, B.D; KERRIHARD, A.L.; AMAROWICZ, R.; PEGG, R.B. Phenol – based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, n.2, p.148-173, 2012.

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

FRANKEL, E. N.; MEYER, A.S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n.13, p. 1.925-1.941, 2000.

GARCIA-SALAS, P.; MORALES-SOTO, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Phenolic compounds- extraction systems for fruit and vegetable samples. **Molecules**, v.15, p.8813-8826, 2010.

HAMMERSCHMIDT, P.A.; PRATT, D.E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of Food Science**, v.43, n. 2, p. 556-559, 1978.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v.53, n.8, p.2928-2935, 2005.

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

LAGUERRE M, LECOMTE J, VILLENEUVE P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v.46, n.5, p. 244-282, 2007.

MAIA, G.A.; SOUSA – FILHO, M.S.M.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I.M. Caracterização química de pedúnculos de diferentes clones de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale L.*). *Revista Ciência Agronômica*, v.35, p.272-278, 2004.

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

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.44, n.2, p.193-200, 2008.

MELO, P.S.; BERGAMASCHI, K.B.; TIVERON, A.P.; ADNA PRADO MASSARIOLI, A.P.; OLDONI, T.L.C.; ZANUS, M.C.; PEREIRA, G.E.; ALENCAR, S.M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.1088-1093,2011.

McCLEMENTS, D.J.; DECKER, E.A. Lipídeos. *In: Química de alimentos de FENNELA*. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

NASCIMENTO, R. J.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava L.*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.2, p.209-216, 2010.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; BARROS,M.P.; MANO,C.M.; GOULART, M.O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, Washington, v.15,n.2, p. 469-475, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ,J.; ARRANZ,S.; TAERNEIRO,M.; DÍAZ-RUBIO,M.E.; SERRANO,J.; GOÑI,I.; SAURA-CALIXTO,F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and bevarages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v.41, p.274-285, 2008.

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

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

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.; A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270–276, 1998.

SILVA, D.C.F.; NASCIMENTO, M.A.; MOREIRA, A.V.B. Verificação da presença de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes em amostras de café. **Nutrire**, v. 32, n. 1, p. 41-58, 2008.

SILVA, R.C.O ; MOREIRA, A. C. C. G. ; NASCIMENTO, J.D.M ; MACIEL, M.I.S. ; MELO, E. A. . Antioxidant Potential of Extracts of Caja-Umbu Peels. **The Natural Products Journal**, v. 2, p. 149-154, 2012.

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

YANISHILIEVA, N.V.I.; MARINOVA, E.M. Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. **Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 4, p. 377-382, 1995.

7. CONCLUSÕES GERAIS

O resíduo agroindustrial de pedúnculo do caju apresenta em sua composição quantidades relevantes de compostos bioativos, com destaque para os compostos fenólicos que se encontram em maior proporção, além de proteínas, lipídeos e carboidratos.

Os fenólicos totais foram solubilizados tanto em metanol como em acetona, no entanto a otimização foi conseguida empregando acetona 55%, 30 minutos, temperatura de 30°C e agitação de 150 rpm. Com o solvente hidrometanólico não foi evidenciado influência das variáveis independentes sobre a quantidade de fenólicos extraída, podendo ser empregado solução de metanol a 50%, tempo 30 minutos, temperatura de 50°C e agitação de 100 rpm.

Extratos hidroacetônico e hidrometanólico obtidos por processo de extração sequencial, empregando as condições ideais de processo, definidas nos planejamentos fatoriais aplicados (55%, 30°C e 150rpm e 50%, 50°C e 100rpm, respectivamente), ao serem combinados exibiram capacidade de sequestro do radical DPPH superior a 90%, correlação positiva entre os fenólicos totais e o percentual de sequestro, e eficiência na captura do radical ABTS. No entanto, em meio lipídico, a intensidade da ação foi considerada intermediária, tendo em vista que apresentou boa eficiência em bloquear o início da reação de oxidação, porém na fase de propagação mostrou-se menos eficaz.

Diante destes resultados, pode-se apontar o resíduo de caju como uma fonte promissora de compostos bioativos de capacidade antioxidante relevante, com perspectiva de ser empregado no desenvolvimento de novos produtos ou constituir matéria prima para extração de compostos antioxidantes a serem aplicados em alimentos em substituição total e/ou parcial aos antioxidantes sintéticos.