
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUACAO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Extração sequencial de compostos fenólicos e pectina da casca da
manga assistida por ultrassom**

-Dissertação de Mestrado-

Bruna Bárbara Valero Guandalini Yamashita

Porto Alegre

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Extração sequencial de compostos fenólicos e pectina da casca da
manga assistida por ultrassom**

Bruna Bárbara Valero Guandalini Yamashita

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre em
Engenharia

**Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ligia Damasceno Ferreira
Marczak**

Co-orientadora: Dr.^a Naira Poerner Rodrigues

Porto Alegre

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Extração sequencial de compostos fenólicos e pectina da casca da manga assistida por ultrassom*, elaborada por Bruna Bárbara Valero Guandalini Yamashita, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

Dr.^a Vivian Caetano Bochi

Dr.^a Cibele Freitas de Oliveira

Agradecimentos

Às minhas orientadoras Ligia Damasceno Ferreira Marczak e Naira Poerner Rodrigues pelo apoio, ensino e compreensão ao longo da elaboração deste trabalho.

Aos colegas e amigos do LATEPA pela amizade, paciência e grande ajuda durante todo o trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química e a CAPES pelo auxílio financeiro.

À minha família, em especial à minha mãe, pelo constante apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao meu marido, Lucas, pela paciência, apoio e compreensão em todos os momentos, especialmente na etapa de finalização do trabalho.

Resumo

A manga é uma das frutas tropicais mais produzida no mundo, sendo amplamente consumida *in natura* e processada. O seu processamento gera grande quantidade de resíduos, sendo 15 % a 20 % do seu peso representado pela casca. A casca da manga contém quantidades significativas de fitoquímicos, como os compostos fenólicos, os carotenoides e a pectina. Devido à sua composição química, rica em compostos benéficos à saúde, e à grande quantidade de resíduos gerados anualmente a casca da manga apresenta enorme potencial para ser utilizada como ingrediente funcional. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estudar a extração sequencial de compostos fenólicos e pectina da casca da manga com o auxílio do ultrassom. O trabalho foi dividido em duas etapas. A primeira etapa avaliou a extração dos compostos fenólicos através de um planejamento experimental 3². As variáveis independentes foram a concentração de etanol na solução aquosa de extração (25-75 %, v/v) e a potência do ultrassom (25-75 %). Os resultados mostraram que o ultrassom não afetou significativamente a extração dos compostos fenólicos. Visando reduzir a quantidade de solvente e energia gastas no processo de extração, o melhor rendimento (67 %) foi obtido com solução aquosa com 50 % de etanol, sem aplicação do ultrassom, e 8 minutos de processamento. A segunda etapa do trabalho teve como objetivo estudar a influência do ultrassom e da extração prévia dos compostos fenólicos na qualidade e rendimento da pectina. Os resultados demonstraram aumento superior a 50 % no rendimento da pectina com a aplicação do ultrassom no resíduo da extração dos compostos fenólicos. A extração prévia dos compostos fenólicos não prejudicou o rendimento e a qualidade da pectina extraída da casca da manga demonstrando que os compostos fenólicos e pectina podem ser extraídos da casca da manga com auxílio de uma tecnologia emergente.

Palavra-chave: Compostos bioativos, otimização, tecnologia emergente.

Abstract

Mango is an important tropical fruit consumed in fresh or processed form worldwide. Commercial processing of mango into juice, nectar, pulp, puree, and jam produces 15-20 % peel waste. Mango peel contains significant amounts of phytochemicals, like phenolic compounds, carotenoids and pectin, which makes it suitable to be processed for value-added applications in functional foods and nutraceuticals. Mango peel has enormous potential as a functional ingredient. Thus the aim of this work was to study the ultrasound technology potential for sequential extraction of phenolic compounds and pectin from this agroindustrial waste. The work was divided in two steps. The first step was to explore the phenolic compound extraction assisted by ultrasound using an experimental design (3²). The independent variables were ethanol concentration (%) and ultrasound power intensity (%). The results showed that the ultrasound power intensity did not affect the phenolic compound content extracted. Aiming to reduce the amount of solvent and the spending energy, the best extraction yield (67 %) was obtained using 50 % of ethanol concentration, without ultrasound intensity and 8 minutes of experiment under stirring. In the second step, the aim was to investigate the potential of ultrasound intensity and the influence polyphenols removal on the extracted pectin quality. Results showed that extraction yield enhance over than 50 % when ultrasound (75 %) was used on the phenolic extraction residue and the pectin obtained a galacturonic acid content higher than 65 %. The phenolic extraction did not affect the quality of the pectic polymer extracted from mango peel. The results showed that the phenolic compounds and pectin from mango peel can be extracted using an emerging technology.

Keywords: bioactive compounds, optimization, emerging technologies.

Lista de Figuras

Figura 1 - Variedades de manga mais produzidas.	26
Figura 2 - Partes constituintes da manga cultivar Tommy Atkins.....	27
Figura 3 - Principais nutrientes presentes na casca e no caroço da manga. 28	
Figura 4 - Estrutura molecular do β -caroteno.	32
Figura 5 - Estrutura básica dos flavonoides.	34
Figura 6 - Estrutura molecular das sub-classes dos flavonoides.	35
Figura 7 - Estrutura molecular dos compostos fenólicos não flavonoides. 35	
Figura 8 - Estrutura da unidade de ácido galacturônico.	39
Figura 9 - Estrutura da parede celular de vegetais.	39
Figura 10 - Estrutura química e grupos esterificados.	42
Figura 11 - Passagem das ondas ultrassônicas pelo meio e formação e colapso das bolhas.	45
Figura 12 - Mecanismo de indução de danos nas células através do ultrassom.	45
Figura 13 - Tipos de equipamento de ultrassom: a) Ultrassom tipo banho (Ciencor 2016). b) Ultrassom tipo sonda (Sonics 2016).....	47
Figura 14 - Fluxograma de preparo da casca da manga seca.....	51
Figura 15 - Gerador de ondas ultrassônicas e célula de extração de pectina da casca da manga.	57
Figura 16 - Fluxograma do processamento da casca da manga e tratamentos de obtenção da pectina.	61
Figura 17 - Comparação da cor das cascas de manga nos diferentes tratamentos de secagem e branqueamento.	75
Figura 18 - Casca da manga cortada em diferentes tamanhos; a) padrão 1 cm ² – úmida, b) padrão 1 cm ² seca em estufa a 60 °C, c) triturada (< 4 mm de diâmetro) seca em estufa a 60 °C.	78
Figura 19 - Teor de compostos fenólicos totais extraídos da casca da manga em função do tempo para os diferentes tamanhos de casca estudados.	79

Figura 20 - Teor de compostos fenólicos totais extraídos da casca da manga em função do tempo, nas diferentes condições do planejamento.	81
Figura 21 - Superfície de contorno (a) e diagrama de contorno (b) para a extração de compostos fenólicos totais da casca da manga (mg EAG/ g casca b.s.) em diferentes concentrações de etanol (%) e potência do ultrassom aplicada (%), após 8 minutos de extração.	86
Figura 22 - Cromatograma do perfil de carotenoides na casca da manga seca em estufa a 60 °C a partir da extração exaustiva. Identificado de acordo com Tabela 9.	89
Figura 23 - Cromatograma do perfil de carotenoides do processo de extração com acetona (acetona 50 %, 8 minutos de agitação, 30 °C). Identificado de acordo com Tabela 9.	90
Figura 24 – Estrutura química dos carotenoides all-trans- β -caroteno e all-trans-luteína.	92

Lista de Tabelas

Tabela 1. Teor de nutrientes na casca da manga (fresca) e na farinha da casca da manga.....	30
Tabela 2. Parâmetros estudados no processo de otimização da extração de compostos fenólicos da casca da manga assistido por ultrassom.	56
Tabela 3. Valores das variáveis independentes do planejamento experimental 3^2 para os experimentos de extração dos compostos fenólicos assistidos por ultrassom.	58
Tabela 4. Experimentos de extração de pectina realizados na casca da manga – extração convencional de pectina e estudo da potência do ultrassom.	63
Tabela 5. Teores de compostos fenólicos totais e de carotenoides totais da casca de manga seca por diferentes métodos de secagem.	68
Tabela 6. Parâmetros colorimétricos da casca da manga em diferentes processos de secagem e branqueamento.	74
Tabela 7. Teor de compostos fenólicos e rendimento obtido para a extração assistida por ultrassom com diferentes potências aplicadas e concentrações de etanol, para 8 minutos de extração.	82
Tabela 8. Coeficientes de regressão para a extração dos compostos fenólicos da casca da manga.	83
Tabela 9. Concentração, tempo de retenção e comprimento de onda dos carotenoides identificados na casca de manga.	91
Tabela 10. Caracterização da pectina da casca da manga obtida por extração convencional, com e sem a aplicação do ultrassom.	93
Tabela 11. Parâmetros de cor da pectina da casca da manga obtida da extração assistida por ultrassom (potência 75 %) e controle, para o resíduo da prévia extração dos compostos fenólicos e da casca apenas hidratada.	100

Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
a_w	atividade de água
b.s.	base seca
CLAE	cromatográfica líquida de alta eficiência
EAG	Equivalente em Ácido Gálico
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
GE	grau de esterificação
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
mg	miligramas
MTBE	<i>Methyl-terc-butyl ether</i> (éter metil-terc butílico)
m/v	massa/volume
PTFE	politetrafluoretileno
v/v	volume/volume
μg	micrograma

Sumário

Capítulo 1 – Introdução.....	19
Capítulo 2 – Objetivos	22
2.1 – Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivos específicos	22
Capítulo 3 – Revisão bibliográfica.....	25
3.1 - Manga	25
3.1.1 Produtos derivados da manga.....	27
3.1.2 A casca da manga.....	28
3.2 Compostos de interesse na casca da manga	30
3.2.1 Carotenoides	31
3.2.2 Compostos fenólicos	33
3.2.3 Fibras alimentares.....	37
3.3 Métodos de extração	42
3.3.1 Ultrassom.....	43
3.3.2 Princípios gerais do processamento utilizando ultrassom....	44
3.3.4 Extração de compostos bioativos com auxílio do ultrassom	48
Capítulo 4 – Materiais e Métodos	50
4.1 Matéria-prima e obtenção da casca da manga seca	50
4.2 Caracterização da casca da manga	51
4.2.1 Teor de umidade.....	52
4.2.2 Análise de cor.....	52
4.2.3 Extração exaustiva.....	53

4.3 Extração de compostos fenólicos e de carotenoides assistidos por ultrassom.....	55
4.3.1 Testes preliminares	55
4.3.2 Extração e quantificação de compostos fenólicos.....	56
4.3.3 Extração e quantificação dos carotenoides totais	58
4.4. Extração sequencial da pectina da casca da manga	60
4.4.1 Extração convencional da pectina da casca da manga	61
4.4.2 Extração de pectina assistida por ultrassom	62
4.4.3 Caracterização da pectina extraída da casca da manga	63
4.5 Análise estatística	66
Capítulo 5 – Resultados e discussão	67
5.1 Caracterização da casca de manga	67
5.1.1 Quantificação dos compostos fenólicos totais e carotenoides totais.....	67
5.1.2 Análise colorimétrica.....	73
5.2 Estudo do processo de extração de compostos fenólicos da casca da manga.....	76
5.2.1 Testes preliminares da extração dos compostos fenólicos da casca da manga	76
5.2.2 Otimização do processo de extração dos compostos fenólicos totais da casca da manga.....	80
5.2.3 Extração e quantificação de carotenoides da casca da manga	87
5.3 Extração e caracterização da pectina da casca da manga.....	92
Capítulo 6 – Conclusões e Sugestões para trabalhos futuros.....	102

Referências	105
-------------------	-----

Capítulo 1 – Introdução

Com o aumento da preocupação da população com a saúde e a ingestão de alimentos mais saudáveis, assim como pela procura por conveniência e praticidade, tem-se observado o aumento no consumo de frutas e seus derivados, tais como polpas e sucos prontos para o consumo. Como consequência da industrialização de frutas, tem-se a geração de resíduos, principalmente cascas e caroços, muitos dos quais não apresentam aproveitamento comercial e cuja destinação inadequada representa um sério problema ambiental.

Dentre as frutas tropicais, a manga (*Mangifera indica* L.) destaca-se como a segunda mais produzida em todo o mundo, atrás apenas da banana. A produção mundial de manga foi superior a 44 milhões de toneladas em 2014, segundo a Food and Agriculture Organization (FAO), sendo a Índia o maior produtor com mais de 18 milhões de toneladas produzidas anualmente. O Brasil é o sétimo maior produtor mundial de manga com produção superior a 1 milhão de toneladas; a região nordeste do país lidera a produção nacional, sendo responsável por mais da metade da produção de manga (FAO).

A cultivar de manga mais produzida no Brasil é a *Tommy Atkins*, sendo muito apreciada devido às suas características sensoriais e nutricionais. A manga é amplamente consumida *in natura*; contudo, por se tratar de uma fruta sazonal, é frequentemente processada em diversos produtos como néctar, sorvete, bebida láctea, doce em pasta e polpa. No processo de industrialização da manga são geradas grandes quantidades de resíduos, uma vez que a casca e o caroço não são utilizados no processamento e podem representar de 35 a 60 % do peso total da fruta.

A casca da manga é o principal subproduto gerado no processamento, correspondendo a cerca de 20 % do peso total da fruta. O aproveitamento desse resíduo é de grande importância, pois nenhuma

aplicação comercial da casca da manga é realizada. Sérios problemas ambientais e altos custos são gerados para sua correta disposição, devido à grande quantidade de casca gerada. A manga também é considerada uma fonte importante de fibras e minerais, além de compostos com atividade biológica como os compostos fenólicos, carotenoides e pectina. Segundo Negro et al. (2003) a casca da manga deve receber um tratamento especial devido aos altos níveis de compostos fenólicos que ela apresenta em sua composição, o que pode ter um efeito ambiental adverso devido à propriedade dos compostos fenólicos de inibir a germinação. Sendo assim, a indústria teria um custo adicional elevado para o tratamento adequado deste resíduo.

Os compostos fenólicos são um amplo grupo de fitoquímicos produzidos através do metabolismo secundário das plantas em condições normais de desenvolvimento ou em resposta às condições de estresse. São compostos hidrossolúveis, em suas maiorias incolores, que apresentam atividade biológica benéfica à saúde, atuando no combate às espécies reativas produzidas no organismo.

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis encontrados normalmente em vegetais, folhas e frutas de coloração verde, amarela, laranja e vermelhas. Além disso, são compostos apolares que apresentam propriedades antioxidantes, podendo seu consumo contribuir para uma melhora da qualidade de vida e prevenção de algumas doenças como câncer, doenças cardiovasculares, e outras doenças crônicas e degenerativas.

Estudos realizados com a casca da manga demonstram que ela também é rica em fibras alimentares totais, representando cerca de 12 % da composição centesimal da casca. A pectina destaca-se como uma fibra solúvel com propriedades benéficas à saúde como prevenção do câncer (Delphi e Sepehri 2016; Khorasani e Shojaosadati 2017). A

pectina é muito utilizada pela indústria alimentícia como agente espessante, estabilizante e geleificante, bem como pela indústria farmacêutica como encapsulante, além de suas propriedades funcionais.

Tendo em vista o potencial de aplicação e os benefícios à saúde dos compostos biativos presentes na casca da manga, torna-se importante estudar processos de recuperação de todos esses compostos de interesse.

Capítulo 2 – Objetivos

2.1 – Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a utilização do ultrassom como uma tecnologia alternativa na extração dos compostos fenólicos, carotenoides e pectina a partir da casca da manga da cultivar *Tommy Atkins*, avaliando a utilização do etanol como solvente de extração dos compostos fenólicos e carotenoides, e o ácido nítrico como solvente de extração da pectina.

2.2 Objetivos específicos

Este trabalho teve como objetivos específicos:

- ✓ avaliar o efeito do processamento da casca da manga quanto ao processo de secagem e branqueamento térmico, com relação ao teor de compostos fenólicos, carotenoides e cor;
- ✓ otimizar o processo de extração dos compostos fenólicos da casca da manga utilizando uma solução aquosa de etanol e ultrassom;
- ✓ quantificar o teor de carotenoides extraídos na melhor condição de extração dos compostos fenólicos;
- ✓ determinar o potencial de extração da pectina da casca da manga através da extração assistida por ultrassom em ácido nítrico;
- ✓ avaliar o efeito da remoção prévia de compostos fenólicos no processo de extração da pectina.

O presente texto encontra-se estruturado na seguinte forma. O Capítulo 2 apresenta a revisão bibliográfica; o Capítulo 3 descreve os materiais e métodos utilizados, abordando as metodologias de extração, quantificação e caracterização dos compostos avaliados neste trabalho. O Capítulo 4 apresenta os resultados obtidos no presente trabalho. No

Capítulo 5 são apresentas as principais conclusões e sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 3 – Revisão bibliográfica

3.1 - Manga

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma fruta nativa da Índia, pertencente à família Anacardiaceae. O gênero *Mangifera* inclui cerca de 600 espécies, das quais a *M. indica* é a mais importante (Borges et al. 2005). A mangueira se espalhou do sul da Ásia para o mundo, sendo atualmente a segunda fruta tropical mais produzida mundialmente, atrás apenas da banana.

De acordo com a FAO, em 2014, a produção mundial de manga foi superior a 44 milhões de toneladas, em uma área cultivada de 5,6 milhões de hectares. Os maiores produtores mundiais são Índia, China, Tailândia, Indonésia, México, Paquistão e Brasil, sendo que o Brasil é responsável por 2,5 % da produção mundial de manga (FAOSTAT, 2014).

A manga foi introduzida no Brasil no início do século 16, tendo se adaptado bem ao clima e solo nacionais. Atualmente, a manga é cultivada em diversos países de clima tropical e subtropical, sendo o Brasil um dos maiores produtores e exportadores mundiais. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2013, a produção nacional de manga foi superior a 1,1 milhão de toneladas, sendo a região nordeste responsável por mais da metade da produção nacional, seguida pela região sudeste, sul, centro-oeste e norte (IBGE, 2013; Tobergte e Curtis, 2013).

Segundo registros da literatura existem mais de 1000 variedades de manga (Figura 1), porém poucas são cultivadas em escala comercial (Jahurul, et al. 2015). A cultivar *Tommy Atkins* (Figura 2) responde por 80 % dos plantios de manga no Brasil, devido à sua maior tolerância às pragas e doenças. Além disso, essa cultivar destaca-se por sua maior durabilidade pós-colheita e boa aceitação com relação à cor, à suculência e ao sabor.

Apresenta tamanho médio, com formato oval e casca espessa; sua polpa é firme, suculenta e o teor de fibra médio (Tobergte e Curtis, 2013).

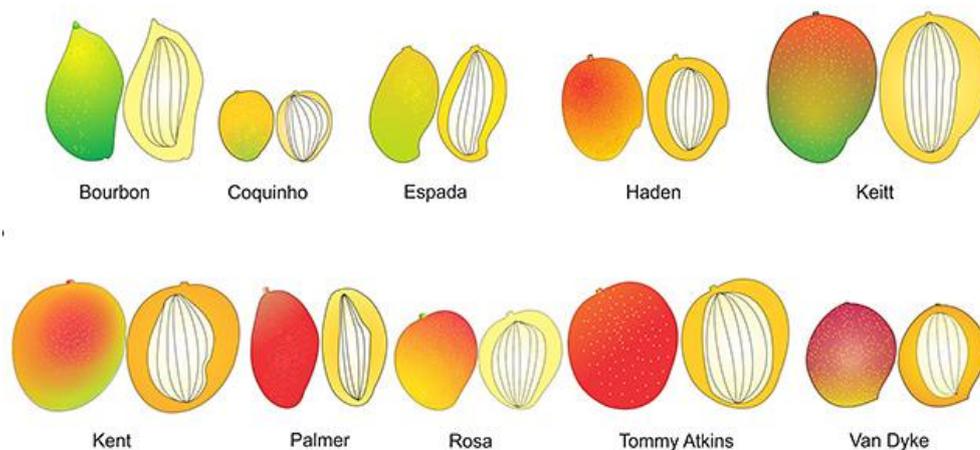


Figura 1 - Variedades de manga mais produzidas.

Fonte: Hortiescolha - Hortipedia (2016).

A produção e o consumo da manga vêm crescendo significativamente ano após ano devido ao aumento da procura por alimentos mais saudáveis (Aziah et al. 2012; José et al. 2016). A manga é considerada uma excelente fonte de micronutrientes, vitaminas e outros fitoquímicos, além de fornecer carboidratos, fibras, proteínas e gorduras vitais para o crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde (Gituanja 2012).

De acordo com Marques A. (2010), 100 g de polpa de manga contém 82,1 g de água, 0,6 g de lipídeos, 0,5 g de proteína, 0,3 g de minerais e 16,5 g de carboidratos totais. Dentre os carboidratos totais, destaca-se o teor de fibras alimentares totais com 3,3 g. Além disso, a manga também é considerada uma importante fonte de vitamina C e de carotenoides, possuindo, em média, 124,4 mg de vitamina C e 3,82 mg de *all-trans-β*-caroteno, carotenoide majoritário presente na manga, a cada 100 g da fruta em grau médio de maturação (Guiamba et al. 2016).

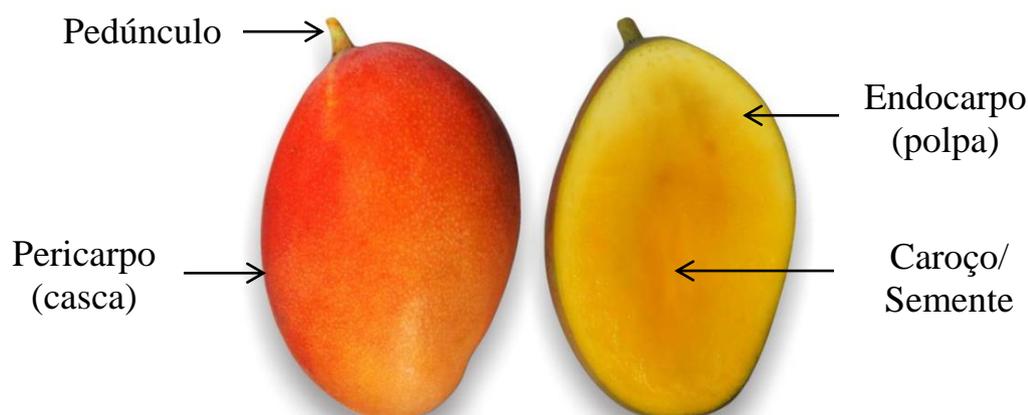


Figura 2 - Partes constituintes da manga cultivar *Tommy Atkins*.

Fonte: Hortiescolha - Hortipedia (2016).

3.1.1 Produtos derivados da manga

No Brasil, como em outros países, a manga é consumida principalmente na forma *in natura*. Contudo, fatores como sazonalidade, curto período da safra e excedentes de produção contribuem para o desenvolvimento e aumento dos processos industriais (Ramos, Sousa e Benevides, 2004). Em geral, as características desejadas para a industrialização são diferentes das almejada para o consumo *in natura*. A indústria alimentícia prefere frutas com alto rendimento de polpa, elevado teor de sólidos solúveis e reduzida quantidade de fibras, enquanto para o consumo *in natura* as frutas com menor acidez e alto teor de sólidos solúveis são as preferidas (Modesto et al. 2016)

Os produtos mais comuns obtidos da polpa da manga são purês, néctares, sucos, polpas, bebidas lácteas e sorvetes, que dependendo da cultivar industrializada. O processamento gera de 35 % a 60 % do peso total da fruta em resíduos, como bagaço, casca e caroço (Larrauri et al., 1996).

Todas as partes da manga, como folhas, flores, casca, polpa e caroço possuem nutrientes essenciais que podem ser utilizados de alguma forma na

alimentação humana (Figura 3). Os resíduos da industrialização da manga além de possuírem diversos nutrientes, que poderiam ser utilizados como aditivos alimentares em diversas preparações, possuem alta atividade de água (a_w), sendo muito propensos ao desenvolvimento de micro-organismos, causando odores desagradáveis e sérios problemas ambientais. Dessa forma, faz-se necessário o estudo de formas de tratar e agregar valor a esses resíduos produzidos pela indústria de processamento de manga (Jahurul et al. 2015).

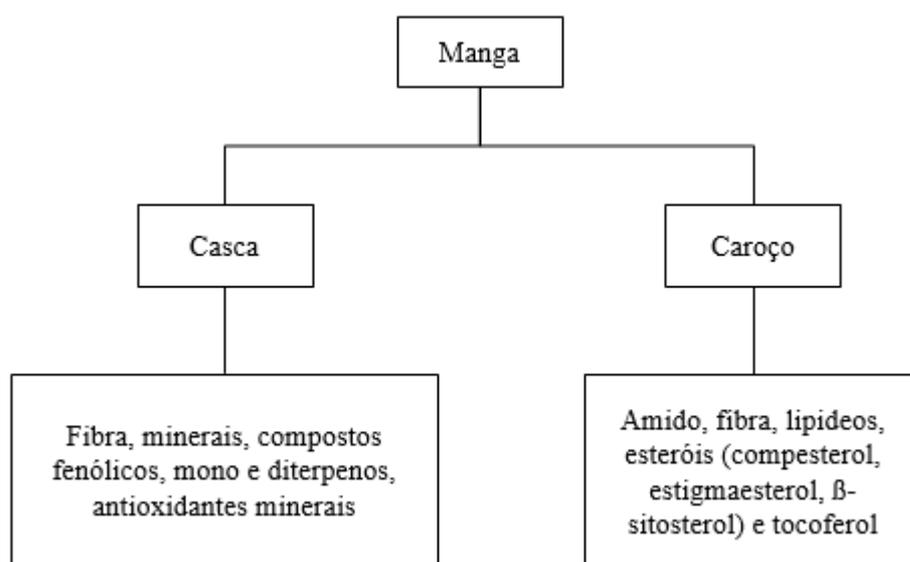


Figura 3 - Principais nutrientes presentes na casca e no caroço da manga.

Fonte (adaptada): Jahurul et al. (2015).

3.1.2 A casca da manga

A casca da manga é um dos resíduos gerados a partir da industrialização e do consumo da manga, contribuindo com cerca de 15 % a 20 % do peso total da fruta (Kim et al. 2012). Tendo em vista a grande quantidade de manga cultivada mundialmente, também são geradas porções significativas de resíduos que, devido a sua composição rica em compostos benéficos à saúde, são uma importante matéria-prima para grupos de

pesquisa que visam diminuir custos e agregar valor aos resíduos da agroindústria mundial (FAOSTAT, 2014; Sai-ut et al., 2015).

Devido ao alto conteúdo de fitoquímicos, como compostos fenólicos, carotenoides, enzimas, vitamina E e vitamina C, que possuem, em sua maioria, propriedades funcionais e antioxidantes, muitos estudos estão sendo realizados utilizando a casca da manga (Jahurul et al. 2015).

Parniakov et al. (2016) estudaram a extração de compostos como proteínas, compostos fenólicos e pectina da casca da manga através de processos convencionais de extração e assistidos por campo elétrico pulsado. Os resultados demonstraram a viabilidade do uso dessa tecnologia na recuperação de compostos com atividade antioxidante e de proteínas da casca da manga.

Pandit, Vijayanand e Kulkarni (2015) estudaram a extração de pectina da casca da manga utilizando diferentes intensidades de ondas de micro-ondas aplicadas à solução de extração. Foi possível a obtenção de maiores rendimentos de pectina e boa qualidade (conteúdo de ácido galacturônico, grau de metoxilação e viscosidade) a partir de condições otimizadas do processamento da casca da manga com micro-ondas.

A Tabela 1 apresenta os resultados da composição centesimal da casca da manga fresca e da farinha da casca da manga. Algumas variações são observadas, especialmente no teor de carboidratos totais e de fibra alimentar. A cultivar analisada, grau de maturação, local de plantio, bem como preparo para a análise pode afetar os valores obtidos.

Tabela 1. Teor de nutrientes na casca da manga (fresca) e na farinha da casca da manga.

Componentes (%)	Casca da manga fresca	Casca de manga seca
Umidade	74,3 – 78,7	3,82 - 5,05
Resíduo mineral fixo	1,0 – 1,9	1,85 – 2,55
Proteínas	1,13 – 1,24	2,19 - 6,11
Lipídeos	0,11 – 0,18	5,77- 6,30
Fibra Alimentar	11,02 – 16,88	37,11
Fibra alimentar solúvel	-	17,47
Fibra alimentar insolúvel	-	30,43
Carboidratos totais	12,89 – 22,48	37,85 (exceto fibras) - 48,57

Mendes (2013); Oliveira (2013); Marques A. (2010); Neto et al. (2015)

Apesar das diversas pesquisas e aplicações da casca da manga, ainda não é conhecida nenhuma aplicação comercial para o aproveitamento da grande quantidade desse resíduo gerado pela indústria, em todo o mundo, sendo importante o estudo e aprofundamento de outras aplicações para a casca da manga.

3.2 Compostos de interesse na casca da manga

A casca da manga é fonte de diversos compostos de interesse para a indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, que apresentam propriedades benéficas ao organismo e propriedades tecnológicas. A seguir são apresentados os principais compostos bioativos presentes na casca da manga.

3.2.1 Carotenoides

Carotenoides são pigmentos naturais lipossolúveis responsáveis pela cor amarela, laranja ou vermelha de muitas frutas, hortaliças, gema de ovo, crustáceos cozidos e alguns peixes; são compostos notáveis por possuírem ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e funções variadas (Fennema, 2007).

A cor é uma propriedade tecnológica de grande importância, já que é o atributo que tem mais influência na aceitação dos alimentos; porém, são os efeitos benéficos à saúde que despertam o interesse da comunidade científica pelos carotenoides. Dentre os benefícios à saúde da ingestão de carotenoides destaca-se o fortalecimento do sistema imunológico, a diminuição do risco de doenças degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata, além de alguns deles apresentarem atividade pró-vitáminica A (Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Fardan 2008).

As plantas, algas, fungos, leveduras e bactérias são capazes de sintetizar carotenoides, que possuem papel importante na proteção do sistema fotossintetizante e na dissipação do excesso de energia nesses organismos; além disso, os carotenoides reagem preferencialmente com o oxigênio singlete, prevenindo a oxidação de clorofilas, lipídeos, proteínas e do DNA. Os animais são incapazes de sintetizar carotenoides e, portanto, dependem da alimentação para sua obtenção (Rodriguez-amaya 2001).

Os carotenoides podem ser classificados em dois grupos: carotenoides hidrocarbonetos, que possuem apenas carbono e hidrogênio em sua estrutura são chamados de carotenos; e as xantofilas, carotenoides oxigenados, ou seja, sua estrutura é composta por oxigênio, além de carbono e hidrogênio.

Os carotenoides dos alimentos são tetraterpenoides formados pela união de oito unidades de isoprenoides. A característica de maior destaque nestas moléculas é um sistema extenso de ligações duplas conjugadas, responsável por suas propriedades e funções bioativas. O extenso sistema de

(5,03 $\mu\text{g/g}$), luteoxantina (3,6 $\mu\text{g/g}$), neoxantina e seu isômero *cis* (1,88 $\mu\text{g/g}$), zeaxantina (1,16 $\mu\text{g/g}$) e 9- ou -9'-*cis*-luteína (0,78 $\mu\text{g/g}$) (Chen, Tai e Chen 2004).

Nagel et al. (2014) estudaram 19 diferentes procedimentos de secagem das cascas da manga das cultivares *Nam Dokmai* e *Maha Chanok*, misturadas em diferentes proporções, para transformação desse resíduo em uma matéria-prima estável para recuperação de compostos bioativos e fibras dietéticas. O teor encontrado de carotenoides totais variou de 3,19 mg/100g de casca em b.s. a 8,30 mg/100g de casca b.s., sendo o *all-trans*- β -caroteno o carotenoide majoritário seguido do 12-*cis*- β -caroteno e o 9-*cis*- β -caroteno.

3.2.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são compostos produzidos a partir do metabolismo secundários dos vegetais e possuem importante papel no crescimento, desenvolvimento, fotossíntese e respiração desses organismos.

Mais de 8000 compostos fenólicos já foram identificados e encontram-se amplamente distribuídos, formando o maior grupo de fitoquímicos encontrados no reino vegetal. Os compostos fenólicos apresentam ao menos um anel aromático em sua estrutura, com um ou mais grupos hidroxila ligados (Fennema, 2007). Os compostos fenólicos podem ser desde estruturas simples, com baixo peso molar e apenas um anel aromático até estruturas grandes e complexas ligadas a açúcares e a ácidos orgânicos. Eles podem ser classificados quanto ao número e organização dos átomos de carbono e tradicionalmente são divididos em dois grandes grupos: os flavonoides e os não flavonoides (Crozier et al. 2009).

O grupo dos flavonoides é composto por compostos fenólicos formados por 15 carbonos, com dois anéis aromáticos unidos por 3 carbonos, formando uma estrutura $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$. Os flavonoides (Figura 5) são

amplamente encontrados no reino vegetal, particularmente na epiderme de folhas e cascas de frutas.

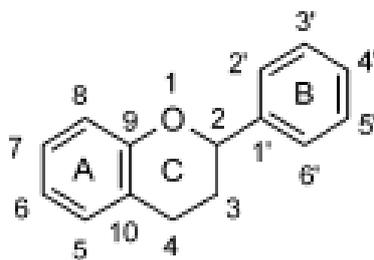


Figura 5 - Estrutura básica dos flavonoides.

Fonte: Crozier et al. (2009).

Os flavonoides se dividem em 6 sub-classes: flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavan-3-óis, flavanonas e antocianinas (Figura 6). Os flavonóis são a classe mais amplamente distribuída no reino vegetal, com exceção dos fungos e algas, e seus principais exemplos são a quercetina e o kampferol. As flavonas, como a apigenina e a luteolina, diferem dos flavonóis pela não oxigenação do carbono 3 e não são amplamente distribuídas na natureza. As isoflavonas são encontradas quase que exclusivamente em leguminosas e seus principais exemplos são a daidzeína e a genisteína. Os flavan-3-óis são a sub-classe mais complexa, abrangendo desde simples monômeros até estruturas complexas, com 50 unidades. As flavanonas, como a naringina, são encontradas principalmente no flavedo de frutas cítricas. As antocianinas, por sua vez, são encontradas na forma de *cátion flavylium*, sendo amplamente distribuídas na natureza, especialmente em frutas e flores e é o composto responsável pelas cores vermelho, roxo e azul de muitos deles.

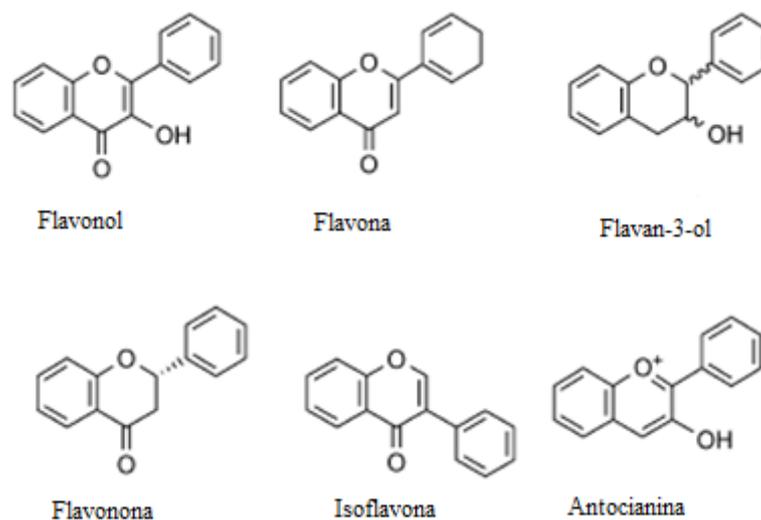


Figura 6 - Estrutura molecular das sub-classes dos flavonoides.

Fonte adaptada: Crozier et al. (2009)

Os compostos fenólicos não flavonoides dividem-se em 3 subclasses: os ácidos hidroxibenzoicos, os ácidos hidroxicinâmicos e os estilbenos (Figura 7). Os ácidos hidroxibenzoicos têm sua estrutura básica C_6-C_1 , sendo o seu principal exemplo o ácido gálico. Os ácidos hidroxicinâmicos, como o ácido cafeico, ácido ferúlico e o ácido cumárico, são possivelmente os compostos fenólicos ingeridos em maior quantidade por consumidores de café. Já os estilbenos são produzidos pelas plantas em resposta às doenças, injúrias e estresse, sendo que o principal exemplo dessa subclasse é o resveratrol (Crozier et al. 2009).

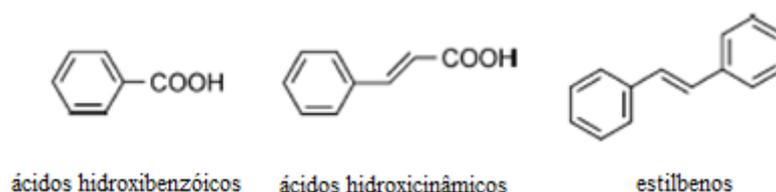


Figura 7 - Estrutura molecular dos compostos fenólicos não flavonoides.

Fonte adaptada:(Crozier et al. 2009).

Estudos mostram que os compostos fenólicos possuem diversas propriedades fisiológicas como efeitos antioxidantes, antimicrobiano,

antialergênico, anti-inflamatório, cardioprotetor e vaso dilatador (Aziah et al. 2012; Nohynek, Meier, & Ka 2001). Alimentos ricos em compostos fenólicos, como frutas e verduras, apresentam diversos benefícios à saúde, devido à capacidade antioxidante desses fitoquímicos, determinada pela sua capacidade de neutralizar radicais livres, doar átomos de hidrogênio ou elétrons, ou complexar cátions metálicos (Modesto et al. 2016; Amarowicz et al. 2004).

Devido ao elevado teor de compostos fenólicos na casca da manga, a sua farinha pode ser utilizada como um excelente ingrediente funcional, podendo ser utilizada no desenvolvimento de produtos como pães, massas e biscoitos integrais, comida para bebê, além de poder ser utilizada em substituição a compostos antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos (Aziah et al. 2012; Sogi, Siddiq e Dolan 2015; Rafiee et al. 2017).

Segundo Sai-ut et al. (2015), os compostos fenólicos presentes em maior quantidade na manga, que são fonte de antioxidantes naturais, são a mangiferina, a catequina, a quercetina, o kampferol, o ácido cinâmico, os taninos e a vanilina. Sogi, Siddiq e Dolan (2015) estudaram diferentes técnicas de secagem da casca da manga da cultivar *Tommy Atkins* e encontraram teores de compostos fenólicos entre 9,63 a 17,25 mg EAG/g de casca seca. Para a casca seca em estufa com circulação de ar a 60 °C o teor de compostos fenólicos foi de 10 mg EAG/ g casca seca a 17,25 mg EAG/g casca seca. A casca da manga da cultivar *Badami* apresentou teor de compostos fenólicos totais de 54,67 mg EAG/ g casca seca no estudo realizado por Ajila et al. (2007) para o processo de extração com utilização de acetona 80 %.

Com relação ao teor de compostos fenólicos na polpa da manga, Sogi, Siddiq e Dolan (2015) estudaram diferentes métodos de desidratação e os resultados obtidos variaram entre 9,36 mg EAG/g de polpa em b.s. e 17,25 mg EAG/g de polpa em b.s.. Em geral, o teor de compostos fenólicos é maior

na casca das frutas do que na polpa, fato também observado para a manga, reforçando o interesse no aproveitamento desse resíduo rico em compostos bioativos.

3.2.3 Fibras alimentares

Os carboidratos são as substâncias orgânicas mais amplamente distribuídas presentes nos tecidos animais, vegetais, assim como nos microorganismos; podem ser classificados de acordo com o tamanho da cadeia em três grupos: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Os monossacarídeos são aldoses ou cetoses de cadeia linear, os oligossacarídeos são polímeros constituídos por número variável de monossacarídeos (de 2 a 20) e os polissacarídeos são formados por mais de 20 monossacarídeos dispostos de forma linear ou ramificada (Ordóñez et al. 2007; Fennema 2007).

As fibras alimentares são classificadas como polissacarídeos vegetais e são subdivididas em dois grandes grupos de acordo com a sua solubilidade: as solúveis em água, como pectina e gomas, e as insolúveis em água, como celulose, hemicelulose e lignina. As fibras alimentares derivadas de frutas e vegetais normalmente apresentam maior proporção de fibras solúveis em relação às insolúveis, sendo as primeiras as principais responsáveis pelas propriedades tecnológicas de retenção de água, retenção de óleo e formação de gel das fibras (Agama-Acevedo et al. 2007).

Outra possível classificação dos polissacarídeos é quanto aos monossacarídeos que o constituem. Denominam-se homoglicanas os polímeros formados pela repetição dos mesmos monossacarídeos, sendo exemplos as homoglicanas, a celulose, a amilose e a amilopectina. Os polissacarídeos formados por diferentes açúcares denominam-se heteroglicanas, como as gomas.

A grande diversidade de polissacarídeos existente faz com que as propriedades dessas moléculas de alto peso molecular sejam muito distintas daquelas dos monossacarídeos que as constituem; assim, dissolvem-se com mais dificuldade, têm pouco sabor doce e suas reações são muito mais lentas (Ordóñez et al. 2007).

A casca da manga é reconhecida como uma boa fonte de fibras alimentares que, quando ingeridas, desempenham um importante papel em diversos processos fisiológicos, além de atuar na prevenção de algumas doenças como a constipação, hipertensão, cirrose hepática, diabetes e câncer (Aziah et al. 2012).

Devido aos efeitos benéficos das fibras na alimentação humana, estudos vêm sendo realizados a fim de encontrar novas fontes de fibras para serem utilizadas como ingredientes funcionais e, assim, agregar valor aos resíduos gerados pela indústria alimentícia. Atualmente a principal fonte de fibras da alimentação humana é derivada de cereais; contudo, as fibras provenientes de frutas, normalmente, apresentam melhor qualidade nutricional, devido a maior quantidade de compostos bioativos e a composição mais balanceada entre o conteúdo de fibras alimentares totais e de fibras solúveis (Aziah et al. 2012).

3.2.3.1 Pectina

A pectina, um dos compostos de interesse nesse trabalho, é um polissacarídeo formado por um esqueleto de ácido galacturônico (Figura 8) unidos por ligação α (1 \rightarrow 4), formando primariamente um homopolímero. Unidades de α -(1,2)-L-raminose podem ser inseridas à cadeia de ácido galacturônico resultando em moléculas na forma de zig-zag (Fennema 2007; Endress e Mattes, 2009).

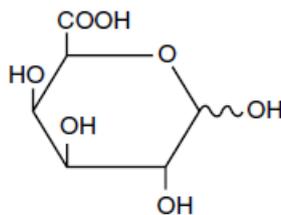


Figura 8 - Estrutura da unidade de ácido galacturônico.

Fonte: Fennema, 2007.

Encontrada basicamente na parede celular primária de dicotiledôneas e nas camadas intercelulares das células vegetais, a pectina praticamente não é encontrada na parede secundária de vegetais (Figura 9). As cadeias de pectina encontram-se juntamente com polímeros de celulose e hemicelulose dando estrutura, firmeza e contribuindo para a adesão entre as células vegetais (Macdougall e Ring 2004). Na fisiologia das plantas a pectina está relacionada com a retenção de água, ao transporte de íons, além do crescimento, tamanho e forma das células vegetais (Endress e Mattes 2009).

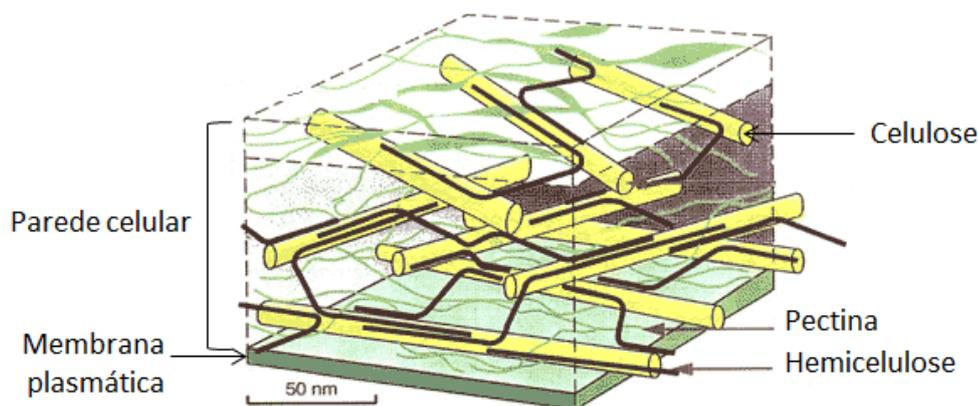


Figura 9 - Estrutura da parede celular de vegetais.

Fonte adaptada: IPPA (2008)

A pectina é extraída comercialmente de poucas variedades de vegetais, apesar da sua ocorrência em quase todos os vegetais. Sua produção comercial

teve início na Europa e Estados Unidos no início do século XX, usando principalmente o bagaço de maçã. A produção industrial de pectina no Brasil teve início no ano de 1954, na cidade de Limeira-SP, sendo a única fábrica de pectina ainda hoje no país e maior produtora mundial de pectina cítrica (Canteri, Scheer, e Moreno 2012).

Para o processo de extração comercial de pectina é necessário que a matéria-prima tenha, além de quantidade significativa de pectina, estabilidade para evitar a degradação do polímero. As principais fontes de pectina comercial são as cascas de frutas cítricas secas e de maçã que apresentam rendimento médio de 30 % e 15 %, respectivamente. Esses materiais são obtidos após a extração de sucos e são imediatamente secos para evitar a degradação da pectina durante o transporte e estocagem (Endress e Mattes 2009).

Os processos industriais de extração de pectina utilizam ácidos inorgânicos, como ácido nítrico, clorídrico e sulfúrico, e temperaturas acima de 50 °C; nessas condições, as ligações que uniam os polímeros pécticos à parede celular vegetal são rompidas e a pectina torna-se solúvel. O processo de obtenção da pectina comercial continua com a separação do polímero do material insolúvel, que contém principalmente celulose, seguindo para a clarificação e concentração (Endress e Mattes 2009; Koubala et al. 2008).

Os parâmetros de extração, como solução extratora e temperatura de processamento, além da fonte de extração escolhidos para a obtenção da pectina, afetam significativamente a qualidade do polímero resultante, especialmente o teor de ácido galacturônico e o grau de esterificação (W. Wang et al. 2015). O teor de ácido galacturônico é o principal parâmetro de qualidade da pectina pois, de acordo com a FAO, um polímero péctico deve apresentar no mínimo 65 % de ácido galacturônico para ser considerada pectina comercial (FAOSTAT 2014).

Alguns estudos realizados sobre a extração de pectina da casca da manga liofilizada vêm apresentando bons rendimentos, como por exemplo Wang et al. (2016) encontraram rendimentos entre 16,70 % e 17,15 % para a extração da pectina da casca da manga, cultivar *Tainong No 1*, a temperatura de 80 °C, assistida por ultrassom (20 kHz; 500W), por 15 minutos, na razão 1:40, com ácido cítrico a pH 2,5. Em outro estudo, Pandit, Vijayanand e Kulkarni (2015b) obtiveram um rendimento de 1,5 % a 16,4 % de pectina extraída da casca da manga com auxílio do micro-ondas. O rendimento máximo obtido foi para o processo de extração realizado com solução de ácido clorídrico pH 1,45, 1000 W de potência do micro-ondas aplicada por 20 minutos, razão sólido:líquido de 1:25 (m/v) e temperatura de 30 ± 2 °C.

3.2.3.1.1 Grau de metoxilação e esterificação

O grau de esterificação é considerado um parâmetro que caracteriza os polímeros de pectina, já que é específico de cada planta, além de ser influenciado pela degradação da pectina durante o amadurecimento de frutas e vegetais, pela ação da enzima pectinesterase, e influenciado pelo processo de extração (Endress e Mattes 2009; Koubala et al. 2008).

O valor de cada polímero para o grau de esterificação representa a quantidade de seus grupos carboxila da cadeia principal de ácido galacturônico que se encontram esterificados com grupo acetil ou mais comumente com grupo metil (Figura 10) (Macdougall e Ring 2004).

Por definição, pectinas classificadas como de alto grau de esterificação, são as que possuem mais de 50 % dos grupos carboxila da cadeia principal de ácido galacturônico esterificadas, e os polímeros com grau de esterificação igual ou inferior a 50 % são consideradas pectinas de baixo grau de esterificação (Endress e Mattes 2009)

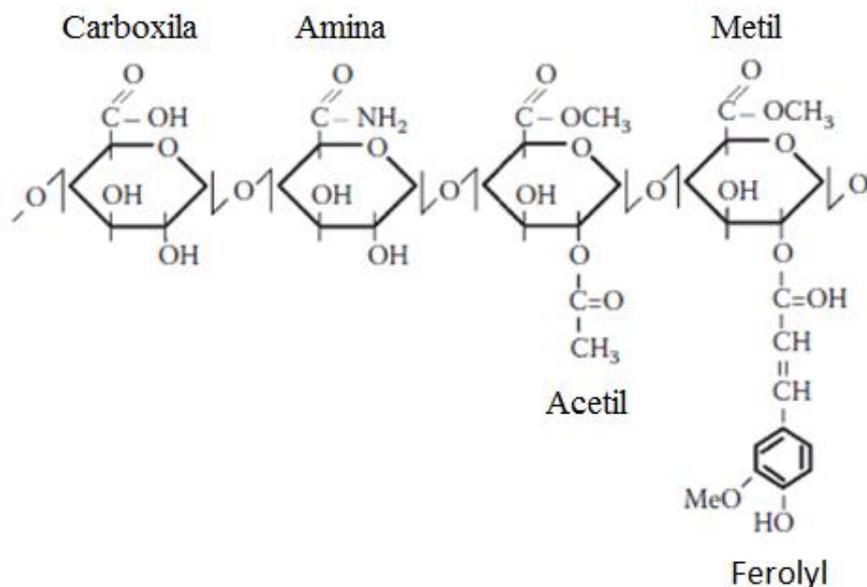


Figura 10 - Estrutura química e grupos esterificados.

Fonte adaptada: H. U. Endress e Mattes (2009).

Pectinas classificadas como de alto grau de esterificação formam gel em pH ácido (< 3,5) e na presença de açúcar; já as pectinas consideradas de baixo grau de esterificação formam gel em valores mais altos de pH e na presença de íons divalente, como o Ca²⁺. A formação de gel ocorre quando a cadeia de ácido galacturônico interage com a água formando estruturas tridimensionais mantendo-a presa em sua estrutura. Quando as interações são suficientemente estáveis ocorre a formação e manutenção do gel (Macdougall e Ring 2004).

3.3 Métodos de extração

Os processos de extração estão presentes nas linhas de produção da indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética ou de bioenergia; eles podem ser processos convencionais como a maceração, destilação ou prensagem, ou técnicas emergentes de extração, como ultrassom, alta pressão hidrostática e campo elétrico pulsado. As tecnologias convencionais de extração costumam

durar longos tempos, e consomem maior quantidade de solvente e de energia durante o processamento. Visando à redução dos custos, processos ambientalmente corretos e a melhora da qualidade do extrato obtido, estudos vêm sendo desenvolvidos procurando aprimorar técnicas de extração (Chemat et al. 2017).

3.3.1 Ultrassom

O ultrassom é uma das tecnologias alternativas atuais da indústria que visa diminuir os custos de processamento e melhorar a qualidade dos produtos obtidos. Processos de extração assistidos por ondas ultrassônicas são conhecidos por apresentarem significativo aumento no rendimento, afetando minimamente as características dos compostos de interesse. O ultrassom é uma tecnologia de extração a frio, visto que a temperatura durante o processamento pode ser controlada em valores relativamente baixos, minimizando a degradação de compostos termossensíveis. Os processos de extração assistidos por ultrassom podem ser realizados em poucos minutos, com ótima reprodutibilidade, reduzido consumo de solventes e energia, obtendo produtos com maior pureza quando comparado aos processos convencionais de extração (Chemat et al. 2017).

Entre as tecnologias emergentes de extração o ultrassom vem se destacando por ser uma técnica fácil de usar, versátil e flexível, podendo ser utilizada para a extração de diversos compostos como pigmentos, aromas e antioxidantes, de diversas matrizes como animal, vegetal, microalgas e leveduras; apresenta baixo consumo de energia e investimento de capital, quando comparado a outras tecnologias emergentes de extração, como o campo elétrico moderado (Shirsath, Sonawane e Gogate 2012; Chemat et al. 2017).

Estudos recentes sobre a utilização do ultrassom em processos de extração de compostos mostram que essa tecnologia além de ambientalmente correta é economicamente viável. Os principais benefícios dos processos de extração assistidos por ultrassom, comprovados pelos estudos, são a redução do tempo de processamento, da quantidade de solvente, da energia utilizada e a quantidade de CO₂ emitido ao meio ambiente (Chemat et al. 2017; Cheng et al. 2015; Kiani, Zhang e Sun 2015)

3.3.2 Princípios gerais do processamento utilizando ultrassom

O ultrassom é uma tecnologia que utiliza a energia de ondas sonoras, em frequência superior à audível (de 20 kHz a 10 MHz) para, entre outras possibilidades, aumentar a transferência de massa em processos de extração, melhorar a estabilidade de emulsões água/óleo e reduzir a contaminação de micro-organismos de alguns alimentos.

A passagem dessas ondas mecânicas por um meio elástico causa sucessivas compressões e rarefações, gerando um fenômeno conhecido como cavitação. A cavitação é o fenômeno responsável pelos efeitos causados pelo ultrassom. O colapso das bolhas geradas pela cavitação leva a um aumento local da pressão e temperatura do meio, chegando até a 5000 K e 1000 atm em um banho ultrassônico a temperatura ambiente, aumentando drasticamente a taxa local de algumas reações (Figura 11) (Chemat e Khan 2011).

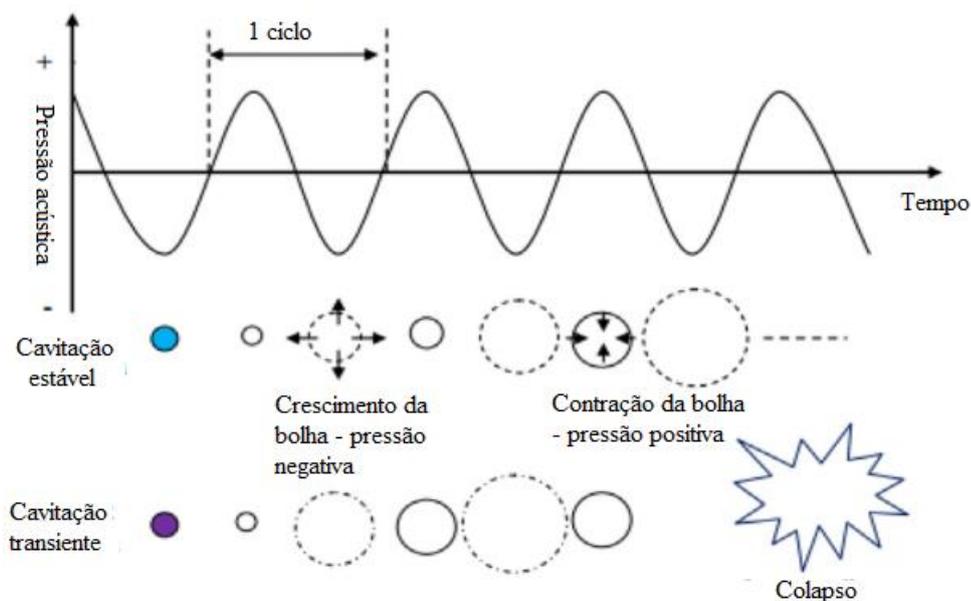


Figura 11 - Passagem das ondas ultrassônicas pelo meio e formação e colapso das bolhas.

Fonte: (Cheng et al. 2015)

As implosões das bolhas geradas pela cavitação geram micro jatos que levam a diversos efeitos como erosão, fragmentação e descamação superficial da matriz de processamento. Esses efeitos em conjunto ou separadamente atuam aumentando a transferência de massa dos compostos de interesse para o solvente utilizado para sua extração (Figura 12).

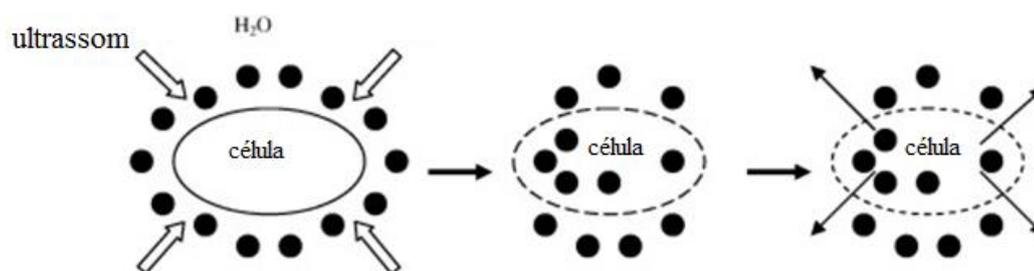


Figura 12 - Mecanismo de indução de danos nas células através do ultrassom.

Fonte adaptada: (Chemat e Khan 2011)

Dentre os efeitos causados pela cavitação destaca-se a fragmentação, que é a redução do tamanho da amostra causada pela colisão entre as partículas e também pelas ondas de choque criadas a partir das bolhas de cavitação em colapso no líquido. O efeito direto da redução do tamanho da matriz é o aumento da área de contato, resultando em uma maior transferência de massa, aumentando a taxa de extração e o rendimento do processo. A erosão é outro efeito causado pela passagem do ultrassom pelo meio de extração, causado provavelmente pela implosão das bolhas geradas pela cavitação; esse efeito aumenta a acessibilidade do solvente ao interior das células, o que aumenta, assim, a taxa de extração e de solubilização do composto de interesse. Outro efeito importante causado pela cavitação é a formação de poros ou canais na matriz de extração, que eleva assim a taxa de absorção de água ou reidratação do tecido, com aumento da taxa de difusão e desorção do soluto no meio, melhorando a transferência de massa do processo (Chemat et al. 2017).

Durante a propagação do ultrassom pelo meio de extração os efeitos de fragmentação, erosão, aumento da porosidade e capilaridade ocorrem em muitos casos simultaneamente e, juntamente como a intensa agitação causada pela passagem da onda ultrassônica pelo meio de propagação, contribuem para o aumento da transferência de massa (Chemat et al. 2017).

3.3.3 Processamento de alimentos por ultrassom

As ondas de ultrassom podem ser classificadas conforme a sua intensidade como de baixa intensidade, menos que 1 W/cm^2 , usadas em análises de garantia da qualidade e controle de processos, e na determinação de propriedades físico-químicas, estrutura e composição da matéria. Já as ondas classificadas como de alta intensidade, de 10 a 1000 W/cm^2 , são as utilizadas nos processos de extração e processamento de alimentos (Tiwari, 2015).

O uso dessa tecnologia em alimentos vem se destacando especialmente em processos de extração, emulsificação, salga e cura, cristalização, secagem e congelamento (Mayumi et al. 2016; Ricce et al. 2016; Kiani, Zhang e Sun 2015)

Os equipamentos para aplicação do ultrassom são basicamente de dois tipos: sonda ou banho (Figura 13). O banho ultrassônico é o mais utilizado e consiste em um banho, normalmente com controle de temperatura, e um transdutor de energia fixado na parte inferior do banho. As ondas de ultrassom são transmitidas através de um líquido (meio elástico – normalmente água) e, devido ao grande volume do banho, a intensidade de potência transmitida é baixa, fator que, muitas vezes, limita seu uso e eficiência para determinados processos que exigem maior intensidade de potência aplicada.



Figura 13 - Tipos de equipamento de ultrassom: a) Ultrassom tipo banho (Ciencor 2016). b) Ultrassom tipo sonda (Sonics 2016)

O ultrassom tipo sonda é mais flexível que o banho ultrassônico uma vez que nesse tipo de equipamento a sonda fica em contato direto com o sistema reacional, podendo ser utilizada em recipientes de diversos tamanhos, o que flexibiliza a intensidade de potência aplicada. Uma

vantagem desse tipo de equipamento ultrassônico é a obtenção de altas intensidades de potência aplicada o que permite sua aplicação em alguns tipos de processos que o banho ultrassônico não é eficiente.

Diversas são as vantagens da utilização do ultrassom, tanto em relação às técnicas convencionais quanto a outras tecnologias emergentes de processamento, como a redução do tempo de processamento e do gasto energético (Tiwari 2015). A principal desvantagem do uso do ultrassom é o alto ruído provocado pelo colapso das bolhas formadas pela cavitação, sendo necessária a utilização de equipamentos de proteção individuais de forma adequada para evitar danos auditivos.

3.3.4 Extração de compostos bioativos com auxílio do ultrassom

A tecnologia do ultrassom já foi estudada como auxiliar no processo de extração de diversos compostos bioativos como óleos essenciais, aminoácidos, compostos fenólicos, carotenoides, polissacarídeos, entre outros. Por exemplo, Luque-García e Luque De Castro (2004) demonstraram uma redução no número de ciclos necessários para a total extração de lipídeos de sementes como o girassol e a soja com o auxílio do ultrassom.

Espada-Bellido et al. (2017) e Rabelo et al. (2016) estudaram processos de extração dos compostos fenólicos com o auxílio do ultrassom. Espada-Bellido et al. (2017) avaliaram a composição do solvente de extração, a temperatura de extração, a amplitude do ultrassom, os ciclos das ondas de ultrassom, o pH e a razão sólido/líquido para a otimização do processo de extração na amora. Os resultados mostraram que a temperatura de extração e a composição da solução de extração foram os fatores que mais afetaram a eficiência do processo de extração. Já Rabelo et al. (2016) estudaram a composição da solução de extração e a potência do ultrassom aplicada no processo de extração na alcachofra. Os resultados mostram que o parâmetro que mais influenciou no teor de compostos fenólicos extraídos do resíduo de alcachofra foi a composição da solução de extração. A potência

do ultrassom foi significativa apenas no nível mais baixo testado, de 180,9 W/cm²; para as demais potências estudadas a aplicação do ultrassom não foi efetiva no aumento do rendimento da extração dos compostos fenólicos no resíduo de alcachofra.

Com relação a processos de extração de polissacarídeos Wu et al. (2014) estudaram a cinética de extração enzimática de polissacarídeos da abóbora com e sem o auxílio do ultrassom. Os resultados mostraram uma maior recuperação dos polissacarídeos através do processo auxiliado por ultrassom.

Capítulo 4 – Materiais e Métodos

4.1 Matéria-prima e obtenção da casca da manga seca

Mangas da cultivar *Tommy Atkins* foram cultivadas em Juazeiro (BA), localizada a 09°24'50'' de latitude sul, 40°30'10'' de longitude oeste e 368 m de altitude, e foram adquiridas no comércio local de Porto Alegre (RS). Cerca de 40 kg de frutas foram lavadas em água corrente, sanitizadas com hipoclorito de sódio (200 ppm) por 20 minutos, enxaguadas em água corrente, descascadas manualmente e o excesso de polpa foi removido das cascas com o auxílio de uma colher. As cascas foram homogeneizadas e cortadas no tamanho 1 cm², embaladas em sacos de polipropileno e seladas. Parte delas foram submetidas ao branqueamento através da imersão em banho de água a 85 °C por 3 minutos e imediatamente resfriadas em banho de gelo. As cascas que não foram branqueadas foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e liofilizadas em seguida (LIOTOP, Modelo L101, Brasil) para que fosse avaliada a influência do branqueamento no teor de compostos fenólicos totais e de carotenoides totais presentes na casca da manga. As cascas branqueadas foram separadas em duas porções, uma delas foi seca em uma estufa (Solab Científica, modelo sl 102/100, Piracicaba, Brasil) com circulação de ar, a temperatura de 60 °C, até peso constante (cerca de 40 horas) e a outra porção foi seca por liofilização (cerca de 72 horas).

Após a secagem em estufa a 60 °C, parte das cascas foi triturada em um moinho de facas (Ika werke, modelo MF10, Staufen im Breisgau, Alemanha) com abertura de 4,0 mm. As cascas em pedaços de 1 cm² e as cascas moídas com diâmetro menor do que 4 mm foram transferidas separadamente para embalagem de polipropileno e armazenadas protegidas da luz em freezer a -38 °C. A casca da manga utilizada para a extração exaustiva foi triturada em um moinho de facas (Ika werke, modelo MF10,

Staufen im Breisgau, Alemanha) e teve sua granulometria padronizada em tamanho menor do que 0,250 mm pela passagem das cascas por uma peneira de 60 mesh.

A Figura 14 mostra o fluxograma de obtenção da casca de manga seca utilizada em todas as análises desse estudo.

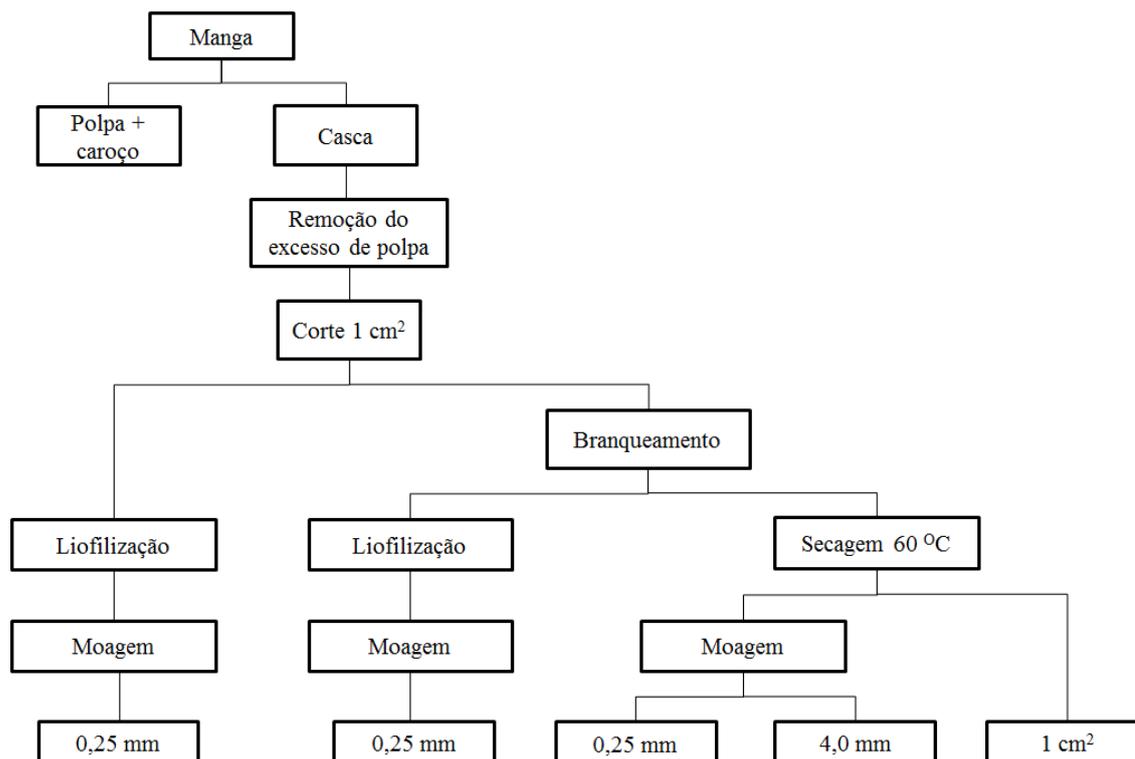


Figura 14 - Fluxograma de preparo da casca da manga seca.

4.2 Caracterização da casca da manga

As metodologias para determinação do teor de umidade, análise de cor e extração exaustiva de compostos fenólicos totais e de carotenoides totais da casca da manga são descritas a seguir.

4.2.1 Teor de umidade

O teor de umidade da casca da manga seca em estufa com circulação de ar a 60 °C foi determinado pelo método gravimétrico através da secagem direta das amostras em estufa (AOAC, 1997). A umidade foi calculada pela diferença de massa antes e após a secagem, através da Equação (1), com os resultados expressos em porcentagem. A partir do resultado do teor de umidade todos os resultados das demais análises foram expressos em base seca.

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

Equação (1)

onde, m_i é a massa inicial da amostra úmida e m_f é a massa final da amostra seca.

4.2.2 Análise de cor

A cor das cascas da manga foi medida em colorímetro Minolta CM-2600d (Minolta Camera Co., Osaka, Japan) no modo de reflectância, utilizando o iluminante D65 e ângulo de observação igual a 10°. Os parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* da escala CIELAB foram obtidos e, a partir dos valores a^* e b^* , foram obtidos os valores de croma (C_{ab}^*) e o ângulo de tonalidade (h_{ab}) que são os atributos quantitativo e qualitativo da cor, respectivamente (Sant'Anna et al. 2013). O valor de C_{ab}^* indica a vivacidade da cor e o h_{ab} indica como a cor tem sido tradicionalmente classificada. Também foi possível o cálculo da diferença total da cor (ΔE) entre os diferentes tratamentos de secagem da casca da manga através dos três parâmetros colorimétricos: L^* , a^* e b^* . Os valores de C_{ab}^* , h_{ab} e ΔE foram calculados conforme as equações a seguir.

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

Equação (2)

$$h_{ab} = \tan^{-1} \left(\frac{a^*}{b^*} \right)$$

Equação (3)

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a)^2 + (\Delta b)^2 + (\Delta L)^2}$$

Equação (4)

4.2.3 Extração exaustiva

A extração exaustiva de compostos fenólicos e de carotenoides da casca da manga foi realizada nas cascas secas através das duas técnicas de secagem estudadas (estufa com circulação de ar a 60 °C e liofilização). Também foi estudada a influência do branqueamento no teor desses compostos na casca da manga liofilizada. A casca da manga foi moída em granulometria menor do que 0,250 mm (60 mesh) para a extração exaustiva dos compostos fenólicos e dos carotenoides, já que a maior superfície de contato facilita a extração em contato com o solvente.

4.2.3.1 Extração exaustiva de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos da casca da manga foram exaustivamente extraídos sob agitação em vórtex, segundo o método proposto por Rodrigues *et al.* (2013), com algumas modificações. Cerca de 0,1 g de casca de manga moída (< 0,250 mm) foi pesada em balança analítica e extraída exaustivamente com 10 mL da mistura metanol/água (8:2, v/v) sob agitação

em vórtex por 5 minutos. A mistura foi centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a temperatura ambiente e o sobrenadante transferido para um balão volumétrico. Esse procedimento foi repetido até a extração completa dos compostos fenólicos da matriz determinado através da metodologia de Folin-Ciocalteu. A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada espectrofotometricamente usando o reagente de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por g de casca da manga em b.s..

4.2.3.2 Extração exaustiva de carotenoides

A extração e quantificação dos carotenoides totais presentes na casca da manga foi realizada de acordo com metodologia descrita por Rodriguez-amaya (2001), com algumas modificações. Cerca de 0,5 g de casca de manga foi hidratada por 10 minutos com água destilada (1000 μ L), sendo exaustivamente extraída com acetona através de maceração com pistilo e almofariz. O procedimento foi repetido até a completa ausência de cor no solvente de extração. O extrato acetônico contendo os carotenoides foi particionado em uma mistura de éter de petróleo/éter etílico (1:1) seguido de sucessivas lavagens com água destilada até a ausência de acetona na água de lavagem. A fase éter contendo os carotenoides foi saponificada através da adição do mesmo volume de solução de KOH 10 % em metanol e deixada em repouso por cerca de 16 h. A saponificação visa separar os carotenoides de interferentes, como clorofilas e lipídeos, possibilitando a correta quantificação dos carotenoides por espectrofotometria no UV-Visível. Após a saponificação procedeu-se então a lavagem dessa mistura, para purificação do extrato de carotenoides, até a completa eliminação da solução de saponificação (pH neutro). Após as lavagens, o solvente éter de petróleo e éter etílico foram evaporados com o auxílio de um rotaevaporador (*Fisatom*,

modelo 450-5, brasil) a 30 °C.

Para a quantificação os carotenoides secos foram ressuspensos em etanol e transferidos para balões volumétricos. O conteúdo de carotenoides totais da casca da manga foi determinado a partir da leitura da solução de etanol em espectrofotômetro em comprimento de onda de 450 nm. O teor de carotenoides totais na casca da manga foi calculado em µg de β-caroteno por g de amostra em base seca, a partir da Equação (5), em que Abs é a absorbância lida em cada amostra, V é o volume do extrato de carotenoides (mL), P é o peso da amostra extraída (g), $A_{1cm}^{1\%}$ é o coeficiente de absorção do β-caroteno em etanol ($A_{1cm}^{1\%} = 2620$).

$$\text{Carotenoides totais } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs} \times V \times 10000}{A_{1cm}^{1\%} \times P}$$

Equação (5)

4.3 Extração de compostos fenólicos e de carotenoides assistidos por ultrassom

4.3.1 Testes preliminares

A extração assistida por ultrassom foi inicialmente realizada na casca da manga em pedaços de 1 cm² com o objetivo de avaliar a eficiência do rompimento celular provocado pelo ultrassom no processo de extração dos compostos fenólicos da casca da manga. Em todos os testes preliminares a concentração da solução aquosa de extração utilizada foi de 75 % de etanol, a temperatura de 30 °C e a razão sólido:líquido (1:25 m/v). O primeiro teste preliminar foi conduzido com objetivo de determinar a necessidade de hidratação da casca da manga anteriormente ao processo de extração. Os resultados mostraram um aumento significativo na eficiência do processo de extração com a hidratação da casca (20 minutos). O segundo teste preliminar foi conduzido devido ao baixo rendimento obtido no processo de extração a

partir das cascas em pedaços, mesmo após a hidratação. Procedeu-se então a moagem da mesma em um moinho de facas. O tamanho escolhido para trituração da amostra foi de 4 mm, já que esse é o menor diâmetro obtido na trituração da casca da manga úmida. Dessa forma, as cascas previamente hidratadas e com diâmetro inferior a 4 mm foram utilizadas no estudo da influência da potência do ultrassom e da composição da solução de extração na recuperação dos compostos fenólicos totais através de um planejamento fatorial 3^2 .

4.3.2 Extração e quantificação de compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos na casca da manga assistida por ultrassom foi avaliada conforme o tempo do processo através de um planejamento fatorial (3^2). Os parâmetros analisados no planejamento foram a porcentagem de etanol na solução de extração e a potência da sonda ultrassônica (Sonics & Materials, inc., modelo vcx750, Estados Unidos) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros estudados no processo de otimização da extração de compostos fenólicos da casca da manga assistido por ultrassom.

Parâmetros estudados	-1	0	+1
Potência do ultrassom (%)*	25	50	75
Concentração de etanol (%)	25	50	75

*Os valores 25 %, 50 % e 75 % para a potência do ultrassom correspondem às potências de 165,87 W/cm², 331,6 W/cm² e 497,4 W/cm², respectivamente.

A extração assistida por ultrassom foi realizada em uma célula de extração que consiste em um béquer encamisado, colocada sobre um agitador magnético (Fisaton Brasil, modelo 752^a, Brasil) para evitar zonas de superaquecimento e conectada a dois banhos termostatizados – um de

resfriamento a 5 °C e outro de aquecimento a 30 °C – a fim de manter a temperatura constante (30 °C) ao longo do experimento de extração. A sonda do ultrassom foi mantida imersa na solução de extração em uma profundidade de 1,2 cm (Figura 15).



Figura 15 - Gerador de ondas ultrassônicas e célula de extração de pectina da casca da manga.

Fonte: Arquivo pessoal.

Para o processo de extração, 4 g de casca da manga foi transferida para a célula de extração e hidratada com 25 mL de água destilada a 30 °C por 20 minutos. Decorrido esse tempo foram adicionados o etanol e a água na mesma temperatura (30 °C) de forma que o volume final da solução extratora fosse 100 mL e o etanol correspondesse a 25 %, 50 % e 75 % da solução total (v/v). A razão casca:solvente usada foi de 1:25 (m/v). Iniciou-se a agitação, a sonda ultrassônica foi ligada e alíquotas de 1,0 mL de extrato foram retiradas em 2, 5, 8, 10, 15 e 20 minutos do processo de extração. O extrato foi imediatamente centrifugado e o sobrenadante utilizado na análise de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu em todas as condições estudadas.

A Tabela 3 apresenta a composição da solução de extração, a potência do ultrassom e blocos utilizados para a realização do planejamento fatorial

de extração dos compostos fenólicos da casca da manga. Cada ponto do planejamento fatorial foi realizado em duplicata.

Tabela 3. Valores das variáveis independentes do planejamento experimental 3^2 para os experimentos de extração dos compostos fenólicos assistidos por ultrassom.

Experimento	Potência do ultrassom (%)	Solução de extração – etanol (%)
1	25	25
2	25	75
3	75	25
4	75	75
5	50	50
6	50	25
7	50	75
8	25	50
9	75	50

*Os valores 25 %, 50 % e 75 % correspondem às potências de 165,87 W/cm², 331,6 W/cm² e 497,4 W/cm², respectivamente.

4.3.3 Extração e quantificação dos carotenoides totais

O conteúdo de carotenoides totais presente no extrato obtido no ponto ótimo de extração dos compostos fenólicos da casca da manga foi determinado de maneira semelhante à extração exaustiva de carotenoides totais (item 3.2.3.2), com diferenças apenas na etapa de extração. A determinação do teor de carotenoides nesse extrato foi realizada a fim de

determinar a eficiência do processo de extração na recuperação de outros compostos bioativos, como os carotenoides.

Nesse caso, a etapa de extração dos carotenoides consistiu na agitação de cerca de 4 g de casca de manga (4,0 mm de diâmetro) com 100 mL de solução de extração (solução aquosa com 50 % de etanol) por 8 minutos a 30 °C (ponto ótimo de extração dos compostos fenólicos). A partir do extrato obtido foram realizadas as etapas de partição, saponificação, concentração do extrato e leitura em espectrofotômetro semelhantemente a análise de extração exaustiva de carotenoides na casca da manga.

4.3.3.1 Determinação do perfil de carotenoides da casca da manga

O perfil de carotenoides dos extratos obtidos na extração exaustiva, no melhor ponto de extração dos compostos fenólicos com etanol e na extração com acetona foi determinado através de cromatografia líquida de alta eficiência. O preparo das amostras seguiu o mesmo procedimento descrito anteriormente, porém, após a leitura das amostras em espectrofotômetro, o conteúdo foi transferido para um tubo de ensaio e o etanol evaporado em uma centrífuga concentradora a 30 °C. As amostras secas foram mantidas congeladas a -18 °C até a análise cromatográfica.

As amostras de carotenoides secas foram ressuspensas em 500 µL de MTBE (éter metil-terc-butílico) e 500 µL de metanol, solubilizadas com auxílio de banho ultrassônico, filtradas em membrana de 0,45 µM de politetrafluoretileno (PTFE) e transferidas para os *vials*. A coluna utilizada para a separação dos carotenoides foi a YMC C30 (5 µm, 250 x 4,6 mm, Waters, Wilmington – DE, USA), em um fluxo de 0,9 mL/min, temperatura da coluna a 29 °C. As fases móveis foram metanol (A) e MTBE (B) com um gradiente linear de A/B 95:5 para 70:30 em 30 min, seguido de 70:30 para 50:50 nos 20 min seguintes, mantendo nessa proporção pelos últimos 15

minutos. O espectro UV-Vis foi obtido entre 200 e 600 nm e analisado em 450 nm. A identificação dos carotenoides foi realizada através da comparação dos tempos de retenção dos compostos, da ordem de eluição na coluna, das características dos picos no espectro UV-Vis com a literatura. A quantificação foi realizada através de curva analítica de 9 pontos do padrão *all-trans*- β -caroteno (0,125 - 15,00 $\mu\text{g/mL}$). Os outros carotenoides foram quantificados em equivalente a β -caroteno.

4.4. Extração sequencial da pectina da casca da manga

A casca da manga é rica em diversos compostos de interesse para a indústria alimentícia, como os compostos fenólicos, carotenoides e pectina. Com o processo de extração sólido-líquido da casca da manga com etanol é possível a extração dos compostos fenólicos. Contudo não é possível a extração da pectina em uma mesma etapa, especialmente devido as suas propriedades físico-químicas. Dessa forma, é interessante o estudo de uma etapa sequencial para extração desse outro composto de interesse ainda presente no resíduo da extração dos compostos fenólicos, avaliando a influência dessa primeira etapa no seu rendimento e qualidade da pectina obtida.

Portanto, nessa seção serão descritos detalhadamente os métodos e as condições utilizadas nas extrações convencional e assistida por ultrassom da pectina da casca da manga e do resíduo obtido da extração dos compostos fenólicos (Figura 16). Os parâmetros de extração e de purificação da pectina foram escolhidos de acordo com metodologia descrita por Freitas de Oliveira et al. (2016).

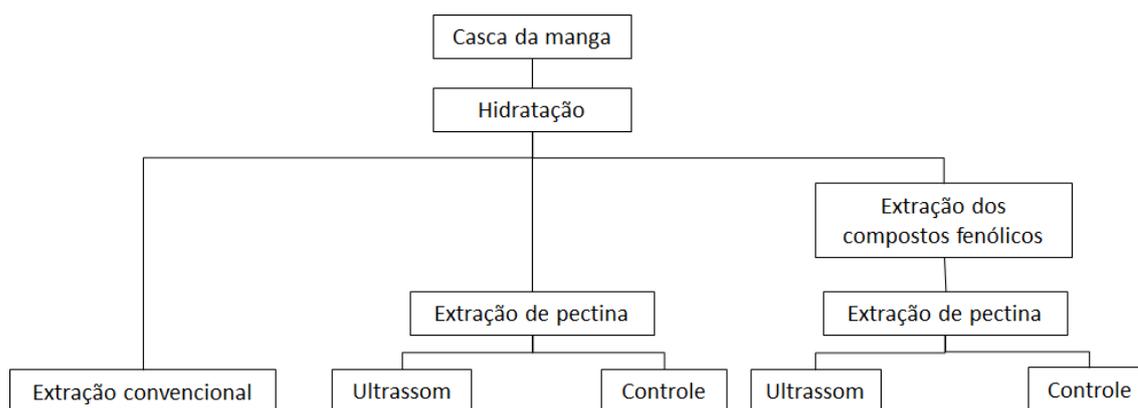


Figura 16 - Fluxograma do processamento da casca da manga e tratamentos de obtenção da pectina.

O agente extrator escolhido para a extração de pectina da casca da manga foi o ácido nítrico, devido à sua eficiência, ao seu baixo efeito corrosivo em tubulações e tanques de aço inox e ao seu amplo uso em processos industriais de extração de pectina.

4.4.1 Extração convencional da pectina da casca da manga

A extração convencional foi realizada na casca da manga moída com o objetivo de conhecer qual a quantidade de pectina presente na casca da manga, possibilitando posterior comparação com o uso da tecnologia do ultrassom. Para a extração convencional de pectina da casca da manga 100 mL da solução de ácido nítrico ($\text{pH } 2,00 \pm 0,02$) foi colocada em uma célula de extração. Com a solução de extração na temperatura escolhida para a realização do processo de extração ($85\text{ }^{\circ}\text{C}$) adicionou-se a casca da manga hidratada (3,3 g de casca da manga em b.s. - 4,0 mm de diâmetro) e iniciou-se a agitação com auxílio de um agitador magnético (Fisatam Brasil, modelo 752a). A extração convencional da pectina da casca da manga foi realizada em 30 minutos.

Terminado o tempo estabelecido para a extração, a agitação foi cessada e, com o auxílio do segundo banho termostático ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$), a mistura

(casca e solução de extração) foi resfriada para temperatura entre 10 °C e 15 °C. A mistura contendo a casca e a solução de extração foi centrifugada por 10 minutos a 10 °C para a retirada do material insolúvel. Após a filtração a vácuo, o sobrenadante foi coletado, adicionado dois volumes de etanol 95 % e deixado em repouso por 30 minutos a 4 °C com o objetivo de precipitar a pectina. A pectina foi filtrada, colocada em sacos de tecido sintético e imersa em etanol 70 %, por 16 horas, para a purificação. Após a etapa de purificação, em que as impurezas, como compostos fenólicos, foram retiradas, a pectina foi seca em estufa com circulação de ar (Solab Científica, modelo SL 102/100, Piracicaba, Brasil) a 40 °C até peso constante.

4.4.2 Extração de pectina assistida por ultrassom

A extração da pectina da casca da manga assistida por ultrassom foi realizada em um equipamento ultrassônico (Sonics & Materials, Inc., modelo VCX750, Newton, Estados Unidos) tipo sonda, com 1,2 cm de diâmetro, e um gerador de ondas com potência máxima de 750 W e frequência de 20 kHz.

O resíduo obtido da extração de compostos fenólicos, na melhor condição de extração estudada (item 4.3.2), foi utilizado para a extração sequencial de pectina da casca da manga. Com o objetivo de avaliar o efeito da extração prévia dos compostos fenólicos no rendimento e na qualidade da pectina obtida, também foi realizada a extração da pectina diretamente na casca da manga apenas hidratada, ou seja, sem ter sido submetida ao processo de extração prévia de compostos fenólicos.

A pectina da casca de manga foi extraída através de uma hidrólise ácida com aplicação de alta temperatura (85 °C). O ácido nítrico foi o agente extrator selecionado, assim como na extração convencional de pectina. Os parâmetros da extração tempo, temperatura, razão sólido/líquido e pH foram baseados na melhor condição de extração de pectina da casca de maracujá

assistida por ultrassom de acordo com Freitas de Oliveira et al. (2016). Os parâmetros utilizados são: tempo de extração de 10 minutos, temperatura de 85 °C, razão sólido/líquido de 1:30 (em b.s.) e pH da solução de extração $2,00 \pm 0,02$.

A extração da pectina assistida por ultrassom seguiu as mesmas etapas de precipitação, purificação e secagem da pectina extraída convencionalmente, porém o tempo de extração foi de 10 minutos, com e sem o auxílio do ultrassom. A Tabela 4 mostra os experimentos realizados de extração de pectina da casca da manga.

Tabela 4. Experimentos de extração de pectina realizados na casca da manga – extração convencional de pectina e estudo da potência do ultrassom.

Procedimento de extração	Potência do ultrassom (%)*	Tempo (min)
Extração convencional	0	30
Casca após extração de fenólicos	75	10
Casca após extração de fenólicos	0	10
Casca hidratada	75	10
Casca hidratada	0	10

*A potência de ultrassom de 0 % e 75 % correspondem ao experimento controle e à potência do ultrassom de 497,4 W/cm², respectivamente.

4.4.3 Caracterização da pectina extraída da casca da manga

Nessa seção serão descritas as análises de caracterização da pectina extraída nos diferentes procedimentos de extração. Para as análises do teor de ácido galacturônico, do grau de esterificação, da cor e do pH, a pectina

foi diluída em água destilada (50 mg em 100 mL) a 50 °C, sob agitação.

4.4.3.1 Rendimento gravimétrico da pectina extraída

O rendimento obtido a partir de cada condição de extração da pectina da casca da manga foi obtido a partir da Equação (6):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa da pectina seca (g)}}{\text{massa da amostra seca extraída (g)}} \times 100$$

Equação (6)

4.4.3.2 Teor de ácido galacturônico

O teor de ácido galacturônico na casca da manga foi determinado pelo método m-hidroxidifenílico (Blumenkrantz e Asboe-Hansen, 1973). Para tanto, uma alíquota da pectina diluída (500 µL), adequadamente diluída, foi misturada com 3,0 mL de tetraborato de sódio 0,125 mol/L em ácido sulfúrico, a mistura foi homogeneizada rapidamente em vórtex e mantida por 5 minutos em banho termostático a 98 °C. Após o tempo de reação, os tubos foram imediatamente resfriados a temperatura ambiente através da imersão em banho de gelo. Adicionou-se 20 µL de m-hidroxidifenil 0,15g/100 mL (NaOH 0,5N) e os tubos foram agitados em vórtex por 5 minutos para o desenvolvimento da cor rosa. A absorbância foi lida em espectrofotômetro (Shimadzu® Model uv-vis 1800) em 520 nm. A curva analítica para a dosagem do teor de ácido galacturônico na pectina extraída da casca da manga foi preparada com o padrão de ácido galacturônico utilizando 6 concentrações, entre 2 e 100 µg/mL.

4.4.3.3 Grau de esterificação

O grau de esterificação (GE) da pectina extraída da casca da manga

foi determinado pelo método titulométrico proposto por Bocek, Zabivalova e Petropavlovskii (2000). A pectina diluída foi titulada com uma solução de hidróxido de sódio 0,05 mol/L até pH $8,5 \pm 0,2$, verificado em pHmetro digital (Digimed, Modelo DM22), sendo o volume gasto anotado (V_1). Adicionou-se 10 mL de hidróxido de sódio 0,5 mol/L à solução titulada, que foi homogeneizada e mantida por 15 minutos a 30 °C. Logo após a solução foi neutralizada pela adição do mesmo volume de ácido clorídrico 0,5 mol/L. O excesso de HCl foi titulado com hidróxido de sódio 0,5 mol/L até o ponto de viragem do indicador fenolftaleína (pH $8,5 \pm 0,2$), o resultado foi registrado como volume final (V_2)

O grau de esterificação da pectina extraída da casca da manga foi calculado pela seguinte equação:

$$\text{GE (\%)} = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100$$

Equação (7)

4.4.3.4 Análise do pH

O pH da pectina diluída foi analisado em pHmetro digital (Digimed, modelo DM22). O pHmetro foi calibrado utilizando soluções tampão de pH 9,0, 7,0 e 4,0.

4.4.3.5 Análise de cor

A cor da pectina diluída foi analisada em colorímetro Minolta CM-2600d (Minolta Camera Co., Osaka, Japan) no modo de transmitância, utilizando o iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. Os parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* da escala CIELAB foram obtidos, e a partir dos valores a^* e b^* , pode-se calcular os valores de croma e o ângulo de tonalidade. Também foi possível o cálculo da diferença total da cor entre os diferentes tratamentos de extração da pectina através dos três parâmetros

colorimétricos: L^* , a^* e b^* , tomando como padrão a pectina extraída da casca da manga de acordo com o processo convencional de extração.

4.5 Análise estatística

Todas as análises referentes à caracterização da casca da manga e otimização do processo de extração dos compostos fenólicos foram realizadas em triplicata e os valores apresentados representam o valor médio das análises. A análise de variância foi conduzida seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para a comparação de médias. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software Statistica 13.2 para Windows.

Capítulo 5 – Resultados e discussão

5.1 Caracterização da casca de manga

A casca da manga utilizada nesse trabalho foi seca de forma a garantir sua conservação e estabilidade ao longo do tempo de estudo, além da padronização do teor de umidade da amostra. Dois métodos de secagem foram escolhidos: por liofilização e em estufa com circulação de ar a 60 °C, que embora ocasione certo grau de degradação de compostos fenólicos e carotenoides, pela aplicação de calor, é mais econômico (Sogi, Siddiq e Dolan 2015). As cascas que sofreram o processo de secagem por liofilização também foram avaliadas quanto ao efeito da etapa de branqueamento térmico. Para os diferentes processos de obtenção da casca da manga seca foram avaliados o teor de compostos fenólicos, de carotenoides e a cor da casca da manga. A umidade final da casca da manga foi de $4,3 \pm 0,2$ g/100 g.

5.1.1 Quantificação dos compostos fenólicos totais e carotenoides totais

Na Tabela 5 são apresentados os valores da extração exaustiva de compostos fenólicos e de carotenoides da casca de manga branqueada e seca em estufa com circulação de ar a 60 °C, branqueada e liofilizada, e para a casca liofilizada e não branqueada; os resultados são expressos em base seca. O teor de compostos fenólicos totais da casca da manga liofilizada (24,0 mg EAG/g) foi cerca de 74 % superior ao encontrado na casca seca em estufa com circulação de ar a 60 °C (13,8 mg EAG/g), ambas branqueadas. Sogi, Siddiq e Dolan (2013) também avaliaram diferentes processos de secagem da casca da manga *Tommy Atkins* e encontraram teores de compostos fenólicos totais, em base seca, de 23,20 mg EAG/g e de 31,85 mg EAG/g para as cascas secas, respectivamente, em estufa com circulação de ar a 60 °C e por liofilização. Assim como no presente trabalho, a secagem em estufa

causou uma redução nos teores de compostos fenólicos totais, devido à aplicação do calor e consequente degradação desses compostos.

Tabela 5. Teores de compostos fenólicos totais e de carotenoides totais da casca de manga seca por diferentes métodos de secagem.

Tratamento	Compostos fenólicos totais (mg EAG/ g casca b.s.)	Carotenoides totais ($\mu\text{g } \beta\text{-}$ caroteno/g casca b.s.)
Secagem em estufa a 60 °C /branqueada	13,82 \pm 0,08 ^c	157 \pm 3 ^c
Liofilizada/branqueada	24,0 \pm 0,7 ^a	353 \pm 14 ^a
Liofilizada/não branqueada	20,5 \pm 0,3 ^b	291 \pm 9 ^b

Os resultados representam a média da triplicata \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O processo de secagem da casca da manga em estufa a 60 °C provocou a maior perda do teor de compostos fenólicos, quando comparado ao processo de secagem por liofilização. A alta temperatura e atmosfera rica em oxigênio presentes na secagem através da estufa com circulação de ar provocaram possivelmente alterações físicas, químicas e bioquímicas na estrutura dos compostos fenólicos, levando a sua degradação (Nayak, Liu e Tang 2015). A redução da temperatura das cascas da manga logo após o corte, através do congelamento por nitrogênio líquido, também pode ter auxiliado no maior teor de compostos fenólicos encontrado nas cascas liofilizadas. A velocidade das reações químicas e enzimáticas que provocam a degradação dos compostos fenólicos é drasticamente reduzida a temperaturas de congelamento, como as utilizadas antes e durante o processo de liofilização (Ordóñez et al. 2007).

As cascas de manga liofilizadas que foram submetidas à etapa prévia de branqueamento mantiveram cerca de 15 % a mais de compostos fenólicos quando comparadas com as cascas não branqueadas. Possivelmente o processo de branqueamento possibilitou a inativação das enzimas, que utilizam os compostos fenólicos como substrato, além da remoção do oxigênio necessário para a ação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, preservando maior quantidade de compostos fenólicos na casca da manga branqueada e liofilizada (Damodaran, Parkin e Fennema 2007). Todos os diferentes tratamentos diferiram significativamente entre si. O branqueamento térmico atuou protegendo os compostos de interesse da degradação, enquanto o método de secagem em estufa com circulação de ar causou a degradação dos compostos fenólicos e de carotenoides.

Wang et al. (2017) estudaram o efeito do branqueamento na perda de peso, inativação enzimática e capacidade antioxidante de pimentas. Os autores concluíram que a capacidade antioxidante e quantidade de compostos fenólicos na pimenta aumentaram com os diferentes tratamentos de branqueamento analisados, justificando tal fenômeno à provável destruição da parede celular dos vegetais pela atuação do calor, facilitando assim a extração dos compostos fenólicos, que são relativamente estáveis ao calor, a análise realizada por Wang et al. (2017) não foi exaustiva.

Sogi (2013) estudou diferentes processos de secagem da casca da manga *Tommy Atkins*, e teor de compostos fenólicos totais encontrado para a casca seca em estufa com circulação de ar a 60 °C foi 23,20 mg EAG/g casca b.s. e 31,85 mg EAG/g casca b.s. para a casca da manga liofilizada. Os autores afirmam que a quantidade de compostos fenólicos foi superior na polpa liofilizada pela ausência de calor aplicado no processo de secagem e pelo rompimento da matriz vegetal causado pelos cristais de gelo formados no congelamento anterior a liofilização. Ajila et al. (2007) encontraram um

teor de 54,67 mg EAG/g casca para a casca da manga da cultivar *Badami* madura fresca extraída com acetona 80 %.

Sogi, Siddiq e Dolan (2015) estudaram, também, o teor de compostos fenólicos encontrados na polpa da manga seca, da cultivar *Tommy Atkins*, utilizando diferentes métodos de desidratação. Os resultados obtidos variaram entre 9,36 e 17,25 mg EAG/g de polpa em b.s., o valor encontrado para a polpa seca em estufa com circulação de ar a 60 °C foi de 10 mg EAG/g polpa b.s., já para a amostra liofilizada o teor foi de 17,25 mg EAG/g polpa b.s., especialmente devido à ausência de calor aplicada e ao rompimento da estrutura celular pelos cristais de gelo formados durante o congelamento das amostras liofilizadas.

A casca da manga possui teores mais elevados de composto fenólicos (13,82 – 24,0 mg EAG/g b.s.) quando comparada com a polpa da fruta (9,63 – 17,25 mg EAG/g b.s.) (Sogi, Siddiq e Dolan 2015). Os valores encontrados demonstram que a extração de compostos fenólicos da casca da manga é uma ótima forma de aproveitamento desse resíduo rico em compostos bioativos.

Nesse estudo, apesar de o teor de compostos fenólicos encontrado na casca da manga seca pelo processo de liofilização ser superior ao observado na casca da manga seca em estufa com circulação de ar a 60 °C, essa última ainda se apresenta como uma ótima fonte de compostos fenólicos podendo ser utilizada em preparações alimentícias para aumentar a capacidade antioxidante ou atuar como antioxidante natural.

Com relação ao teor de carotenoides totais presentes na casca da manga *Tommy Atkins*, a Tabela 5 mostra que se tem um comportamento similar aos compostos fenólicos, ao considerar os tratamentos estudados. Todos os tratamentos aplicados apresentaram diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). O teor de carotenoides totais da casca da manga seca em estufa com circulação de ar a 60 °C (157 μ g β -caroteno/g b.s.) foi cerca de 45 % inferior ao encontrado na casca liofilizada

(353 μg β -caroteno/g b.s.), ambas branqueadas. Já a etapa de branqueamento, prévia à liofilização, auxiliou na proteção dos carotenoides totais mantendo cerca de 21 % a mais de carotenoides quando comparadas com as cascas não branqueadas (Tabela 5).

Os valores encontrados mostram que o tratamento térmico utilizado na secagem da casca da manga afetou significativamente tanto o teor de compostos fenólicos quanto o de carotenoides totais. Os maiores valores encontrados foram na casca liofilizada, devido à ausência de aplicação de calor como método de secagem. Os parâmetros de temperatura (85 °C) e tempo (3 minutos), aplicados na etapa de branqueamento das cascas da manga, foram efetivos na inativação da enzima lipoxigenase, auxiliando, na preservação do teor de carotenoides na casca da manga. Apesar da alta temperatura aplicada na etapa de branqueamento, o curto período de aplicação e o rápido resfriamento subsequente evitaram que essa etapa ocasionasse a degradação dos carotenoides presentes na casca da manga.

Ajila et al. (2007) encontraram teor de $194,0 \pm 0,24$ μg de carotenoides totais/g casca b.s. para a casca da manga da cultivar *Badami* madura fresca; para a cultivar *Raspuri* o teor obtido foi de $436,0 \pm 0,22$ μg de carotenoides totais/g casca b.s.. Ambos os processos de extração foram realizados com solução aquosa com acetona 80 % (v/v). O resultado mostra que o teor de carotenoides encontrado em cada fruta pode mudar, também, com a cultivar estudada, além dos tratamentos aplicados para o seu processamento e conservação.

Aziah et al. (2012) estudaram o teor de carotenoides totais na farinha da casca e da polpa da manga verde e madura e os resultados variaram de 56,46 $\mu\text{g/g}$ para a farinha da polpa da manga verde e 160,64 $\mu\text{g/g}$ para a farinha de casca de manga madura. As farinhas foram produzidas a partir do processamento da polpa e da casca em laboratório utilizando o branqueamento químico com solução de metabisulfito de sódio (0,1 %

massa/volume) e secagem em estufa com circulação de ar a 60 °C por 24 h. O teor encontrado para a farinha de casca de manga madura (160,64 µg/g) foi similar ao encontrado no presente estudo de 157 µg β-caroteno/g casca b.s..

Behsnilian e Mayer-Miebach (2017) estudaram o impacto do branqueamento, congelamento e diferentes condições de estocagem no conteúdo de carotenoides em cenouras. Os resultados encontrados mostram que o conteúdo de carotenoides aumentou com a aplicação do branqueamento nas fatias de cenoura. Os autores acreditam que possivelmente a ruptura dos tecidos durante o branqueamento aumentou a eficiência dos processos de extração. É importante destacar que o estudo levou em consideração o balanço de massa de sólidos perdidos e ganho de água durante o processo de branqueamento. Esse fato não foi considerado no presente estudo, pois, para o branqueamento térmico realizado, as cascas de manga foram previamente embaladas em sacos de polipropileno e seladas, a fim de evitar a absorção ou exsudação de água da casca durante o branqueamento. Outros autores também já obtiveram resultados semelhantes no aumento da extração de carotenoides após a aplicação do branqueamento; o binômio tempo e temperatura escolhido para o processo de branqueamento térmico tem como objetivo a inativação da enzima peroxidase e não a degradação dos carotenoides presentes na amostra. A aplicação de temperaturas muito altas e tempo de tratamento térmico prolongado podem levar a uma degradação significativa da quantidade de carotenoides presentes na amostra (Rodriguez-amaya 2001; Rodriguez-Amaya e Kimura 2004).

O congelamento em nitrogênio líquido seguido pela liofilização é um processo recomendado no preparo de amostras em laboratório a fim de manter o conteúdo e o perfil dos compostos bioativos mais próximos ao da amostra *in natura*. O rápido congelamento em nitrogênio líquido realizado

após o rompimento dos tecidos, causado pelo descascamento e corte da casca da manga, tem efeito na redução da atividade enzimática devido à redução da temperatura e à exclusão do oxigênio, além de reduzir a velocidade de degradação de pigmentos que comumente são sensíveis à temperaturas elevadas (Damodaran, Parkin e Fennema 2007). A remoção da água através da liofilização auxilia na proteção dos compostos bioativos, pois reduz a mobilidade dos reagentes que poderiam degradar esses compostos.

Os teores de compostos fenólicos e de carotenoides na casca de manga liofilizada e não branqueada são tomados como referência ao conteúdo da amostra *in natura*. A secagem em estufa causou degradação desses compostos como esperado mas, ainda assim, esse foi o tratamento selecionado para estudos posteriores, pois a casca da manga ainda contém teores de compostos bioativos de interesse para a extração e o processo de secagem em estufa com circulação de ar é mais viável economicamente e prático para a aplicação pela indústria de alimentos (Michalska et al. 2017).

5.1.2 Análise colorimétrica

Os parâmetros de cor da casca da manga seca em diferentes condições de secagem e branqueamento são apresentados na Tabela 6. As cascas de manga de todos os tratamentos apresentam valores positivos para os parâmetros L^* , a^* e b^* da escala CIELAB de cor. O parâmetro colorimétrico ângulo de tonalidade (h_{ab}) classifica a cor de acordo com o que ela é tradicionalmente definida e é determinado utilizando os parâmetros a^* e b^* . Os valores encontrados para o ângulo de tonalidade das cascas de manga variaram pouco com os tratamentos aplicados (79,1 a 83,4) e todas as amostras são consideradas amarelas.

O parâmetro L^* indica a luminosidade das amostras e varia de preto ($L^*=0$) ao branco ($L^*=100$). No caso das cascas de manga obtidas nos três

tratamentos estudados o valor de L^* variou entre 74,0 a 66,46 e houve diferença significativa entre todos os tratamentos ($p < 0,05$). As cascas que não passaram por nenhum tratamento térmico, ou seja, não foram branqueadas e o processo de secagem utilizado foi a liofilização apresentou o maior valor de L^* (74,0), seguida pela casca liofilizada e branqueada (68,7) e por último com menor valor de L^* encontrado entre os tratamentos analisados a casca da manga seca em estufa a 60 °C e branqueada (66,46). As cascas da manga quando aquecidas, devido à presença de carboidratos e aminoácidos na sua composição, formam compostos escuros através da caramelização e reação de Maillard, por exemplo. Sendo assim as cascas que passaram por tratamentos térmicos, branqueamento e secagem em estufa, apresentaram maior escurecimento e valores de L^* inferiores à casca liofilizada e não branqueada.

Tabela 6. Parâmetros colorimétricos da casca da manga em diferentes processos de secagem e branqueamento.

Tratamento	L^*	a^*	b^*	C_{ab}^*	h_{ab}
Seca a 60 °C /branqueada	66,46 ± 0,09 ^c	4,82 ± 0,08 ^b	26,7 ± 0,3 ^c	27,1 ± 0,4 ^c	79,75 ± 0,03 ^b
Liofilizada/ branqueada	68,7 ± 0,7 ^b	6,9 ± 0,1 ^a	36,1 ± 0,7 ^b	36,8 ± 0,7 ^b	79,1 ± 0,4 ^b
Liofilizada/ não branqueada	74,0 ± 0,4 ^a	5,0 ± 0,1 ^b	43,20 ± 0,05 ^a	43,48 ± 0,04 ^a	83,4 ± 0,1 ^a

Os resultados representam a média da triplicata ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O parâmetro croma (C_{ab}^*) é um atributo qualitativo e fornece informações sobre a vivacidade da cor; maiores valores de croma demonstram maior vivacidade da cor, enquanto menores demonstram opacidade da amostra analisada. Os valores de croma seguiram o mesmo comportamento

do parâmetro b^* e variaram entre 43,48 e 27,1, apresentando o maior valor para a casca liofilizada e não branqueada (43,48), seguido da casca liofilizada e branqueada (36,8) e por último a casca seca em estufa com circulação de ar a 60 °C (27,1). Os valores de croma mostram que os tratamentos térmicos aplicados diminuíram a vivacidade da cor da casca da manga, ou seja, coloração mais próxima ao cinza.

A diferença total de cor (ΔE) é um parâmetro importante para a quantificação da diferença visual e numérica de cor. Considerando a casca da manga liofilizada e não branqueada como padrão de cor, pois foi o tratamento estudado em que a amostra não passou por nenhum processo térmico, calculou-se a diferença total de cor com os outros tratamentos realizados. A diferença de cor entre a casca padrão (liofilizada/não branqueada) e a casca liofilizada e branqueada foi de 9,05, enquanto que a diferença para a casca seca em estufa foi de 18,15. Essa diferença visual de cor é facilmente percebida pela foto das cascas, apresentada na Figura 17. O tratamento térmico aplicado para a secagem, assim como o processo de branqueamento, afetaram a cor da casca da manga, provavelmente através da degradação dos carotenoides, principal pigmento encontrado na casca da manga, bem como devido às reações químicas de escurecimento dos carboidratos e compostos fenólicos.



Figura 17 - Comparação da cor das cascas de manga nos diferentes tratamentos de secagem e branqueamento.

Fonte: Arquivo pessoal.

As alterações nos parâmetros colorimétricos da casca da manga estão relacionadas diretamente com a sua composição. Carotenoides são compostos facilmente degradados pela ação do calor, baixo pH ou exposição à luz e ao oxigênio, devido à sua estrutura formada por uma longa cadeia de ligações duplas conjugadas, responsáveis pelo cromóforo. A degradação dos carotenoides presentes em uma matriz provoca alterações na sua coloração, especialmente a diminuição do parâmetro colorimétrico b^* , descrito como a diminuição do amarelo da amostra, fato que pode ser observado na análise colorimétrica da casca da manga seca através de diferentes metodologias, havendo redução significativa do valor de b^* nos tratamentos estudados. A aplicação de calor na secagem da casca da manga também provocou a degradação dos compostos fenólicos que pode ser observada a partir de alterações na coloração da amostra analisada, especialmente do parâmetro colorimétrico L^* . Observa-se uma diminuição nos valores de L^* conforme a aplicação de calor, devido às reações dos compostos fenólicos produzindo compostos escuros como melanoidinas (Sant'Anna et al. 2013).

5.2 Estudo do processo de extração de compostos fenólicos da casca da manga

5.2.1 Testes preliminares da extração dos compostos fenólicos da casca da manga

Alguns testes preliminares foram realizados com o objetivo de otimizar o processo de extração dos compostos fenólicos da casca da manga seca em estufa com circulação de ar a 60 °C. Foram avaliadas a influência do tamanho das cascas utilizadas no processo de extração e a necessidade de reidratação da casca da manga, já que se procedeu a secagem prévia da amostra para padronização da matéria-prima e conservação ao longo do tempo de estudo.

O primeiro fator analisado no processo de extração dos compostos fenólicos foi a necessidade de reidratação da casca de manga. Essa etapa consistiu na mistura de 4 g da casca seca com 25 mL de água destilada a 30 °C, a mistura foi deixada em repouso por 20 minutos para reidratação. Nesse estudo, avaliou-se a casca da manga seca em pedaços de 1 cm². Dessa forma, visando a redução do gasto energético e do tempo necessário para o processamento, avaliou-se a extração dos compostos fenólicos mantendo-se constante a temperatura de extração em 30 °C, o tamanho da amostra, a agitação, a razão sólido-líquido (1:25 m/v), a solução de extração (solução aquosa com 75 % de etanol) e o tempo de extração (5 minutos). Nesse estudo preliminar não foi utilizada a sonda ultrassônica no processo de extração, ou seja, a extração ocorreu através da agitação da casca em contato com o solvente.

O teor de compostos fenólicos totais obtidos na casca da manga não hidratada foi de $0,88 \pm 0,04$ mg EAG/g de casca b.s.; para a casca hidratada por 20 minutos o teor de compostos fenólicos foi de $1,7 \pm 0,2$ mg EAG/g de casca b.s., ou seja, houve um aumento de 93 % na recuperação dos compostos fenólicos quando a casca foi hidratada antes do processo de extração. Os teores de compostos fenólicos extraídos da casca não hidratada e previamente hidratada correspondem a, respectivamente, 6,4 % e 12 % do teor encontrado na extração exaustiva de compostos fenólicos da casca da manga seca em estufa com circulação de ar ($13,82 \pm 0,08$ mg EAG/g b.s.). Houve diferença significativa entre os resultados obtidos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Sendo assim, como todas as demais condições de extração foram mantidas constantes e estáveis durante o processo, pode-se concluir que para maior recuperação dos compostos fenólicos da casca da manga é necessária sua hidratação. A água de hidratação atua facilitando o contato do solvente (solução aquosa com etanol) com a matriz de extração, com aumento da recuperação dos compostos desejados.

Outro teste preliminar foi realizado com o objetivo de avaliar a influência do tamanho da casca da manga no processo de extração dos compostos fenólicos totais. Acredita-se que o ultrassom seja mais eficiente nos processos de extração em que as células vegetais encontrem-se íntegras, pois as ondas ultrassônicas atuam de forma a rompê-las aumentando o contato do solvente com a matriz de extração, e conseqüentemente a transferência de massa e eficiência do processo. Dessa forma, foram avaliados os tamanhos de casca cortada em cortador manual no formato quadrado com área de 1 cm² e a triturada em moinho com abertura de 4,0 mm de diâmetro cuja imagem está mostrada na Figura 18.



Figura 18 - Casca da manga cortada em diferentes tamanhos; a) padrão 1 cm² – úmida, b) padrão 1 cm² seca em estufa a 60 °C, c) triturada (< 4 mm de diâmetro) seca em estufa a 60 °C.

Fonte: Arquivo pessoal.

Para avaliar a influência do tamanho das cascas de manga sobre o processo de extração dos compostos fenólicos foram mantidos constantes todos os demais parâmetros de extração como a temperatura (30 °C), a razão sólido:líquido (1:25 m/v), a solução de extração (solução aquosa com 75 % de etanol) e o tempo de processamento (70 minutos). Os experimentos foram realizados em duplicata, a casca da manga foi hidratada (20 minutos) e o equipamento de ultrassom foi utilizado como pré-tratamento (10 minutos/ 75 % de potência) anterior a uma etapa difusiva.

A Figura 19 mostra o teor de compostos fenólicos extraídos da casca da manga com diferentes tamanhos ao longo da extração. Pode-se observar que houve um aumento significativo do teor de compostos fenólicos extraídos, independentemente do tempo de extração. A recuperação dos compostos fenólicos da casca moída foi em média 233 % superior ao da casca em pedaços de 1 cm². Tal fato é observado devido ao aumento da área de contato da casca com o solvente de extração quando ocorre uma diminuição no tamanho das partículas.

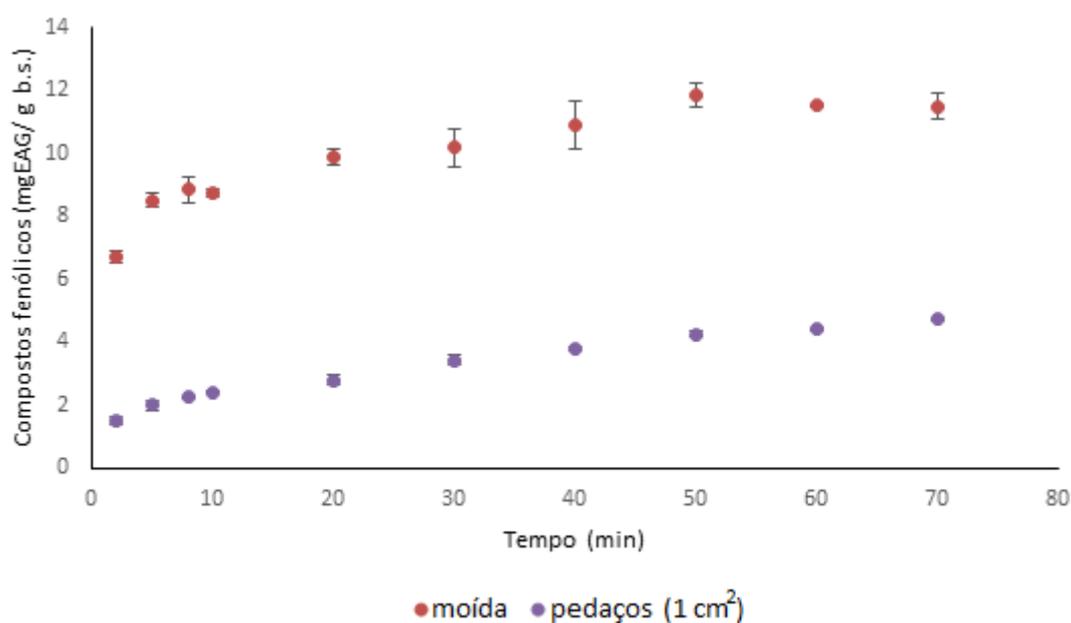


Figura 19 - Teor de compostos fenólicos totais extraídos da casca da manga em função do tempo para os diferentes tamanhos de casca estudados.

Os resultados dos teores de compostos fenólicos extraídos da casca da manga com aplicação do ultrassom, como pré-tratamento por 10 minutos seguido por uma etapa de difusão e monitoramento total de 70 minutos, mostram que o tamanho da casca da manga utilizada no processo de extração afetou significativamente os resultados obtidos. Ao término do processo de extração os teores de compostos fenólicos foram de 4,74 mg EAG/g b.s. para a casca em pedaços de 1 cm² e de 11,49 mg EAG/g b.s. para a casca moída

com diâmetro inferior a 4 mm. Esses teores correspondem a, respectivamente, 34 % e 83 % do teor de compostos fenólicos totais presentes na casca da manga, determinado pela extração exaustiva ($13,82 \pm 0,08$ mg EAG/g de casca b.s.).

Dessa forma, para a otimização do processo de extração dos compostos fenólicos decidiu-se utilizar a casca da manga triturada com diâmetro inferior a 4 mm e reidratada antes do processo de extração. Não foi possível a utilização de granulometria inferior da casca, pois a menor granulometria obtida no processo de trituração da casca úmida foi de 4 mm. Supondo um processo industrial de extração de compostos fenólicos da casca da manga não é viável secar o resíduo e reidratar-lo antes do processo de extração, como foi realizado nesse trabalho; porém a etapa de secagem, nesse caso, foi necessária para manter a estabilidade e homogeneidade da amostra ao longo de todos os experimentos.

5.2.2 Otimização do processo de extração dos compostos fenólicos totais da casca da manga

A partir dos testes preliminares de extração dos compostos fenólicos totais da casca da manga decidiu-se proceder à otimização do processo através de um planejamento fatorial 3^2 . Os parâmetros mantidos constantes durante todo o estudo foram a temperatura de extração, a agitação, a razão sólido-líquido (1:25, m/v) e os tempos de coleta do extrato. A temperatura de extração escolhida foi de 30 °C, de forma a não interferir na transferência de massa dos compostos fenólicos da matriz vegetal para o solvente de extração, bem como para evitar degradação dos compostos bioativos sensíveis ao calor, como os carotenoides. A agitação e a razão sólido/líquido foram mantidas constantes não interferindo na recuperação dos compostos desejáveis da casca da manga nos diferentes experimentos.

Os parâmetros estudados no processo de extração dos compostos fenólicos foram a composição da solução de extração (solução aquosa com 25 %, 50 % e 75 % de etanol) e a potência do ultrassom aplicada (165,87 W/cm², 331,6 W/cm² e 497,4 W/cm²). Primeiramente, realizou-se a determinação do teor de compostos fenólicos ao longo do tempo, através da coleta de alíquotas do extrato em tempos pré-determinados, a fim de se conhecer o tempo no qual a extração dos compostos fenólicos era estabilizada. Os resultados obtidos com extração dos compostos fenólicos em cada diferente condição de processamento no decorrer do tempo são apresentados na Figura 20.

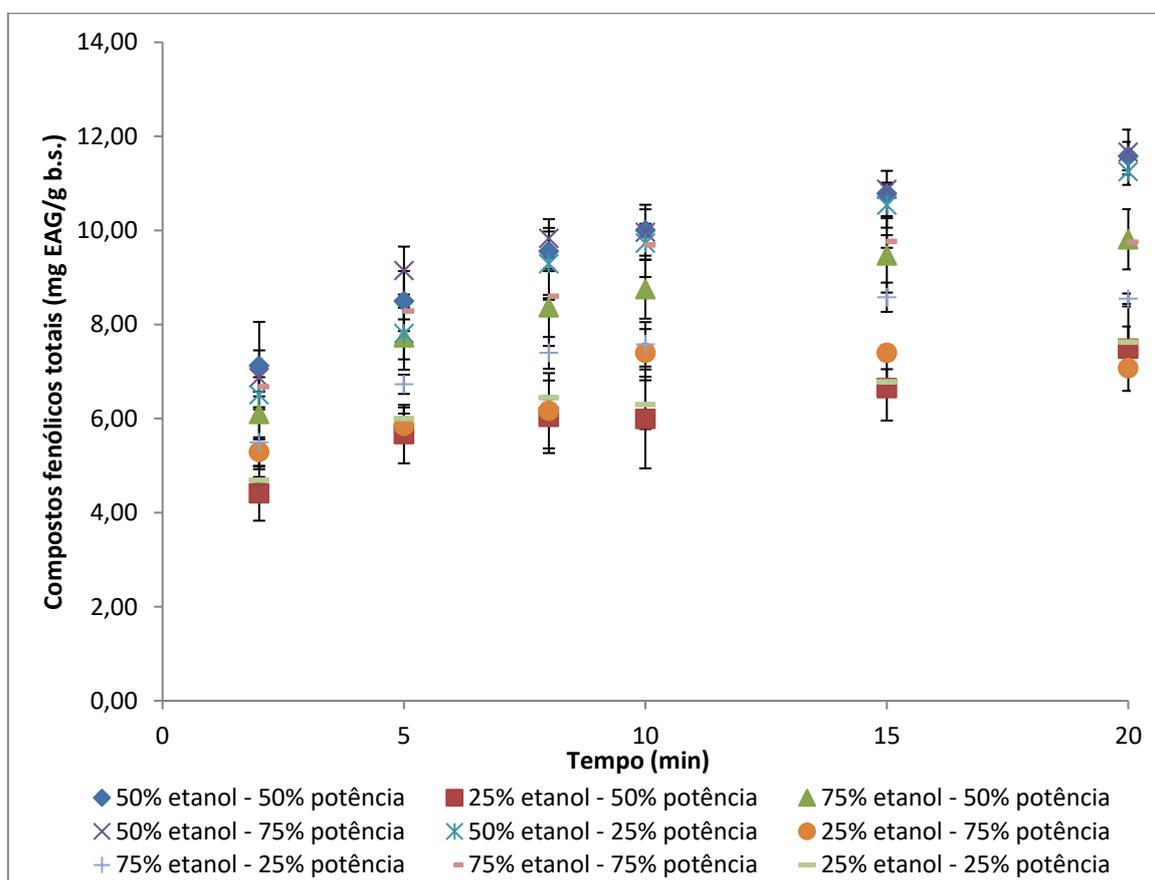


Figura 20 - Teor de compostos fenólicos totais extraídos da casca da manga em função do tempo, nas diferentes condições do planejamento.

A análise estatística dos dados apresentados na Figura 20, considerando nível de significância de 5 %, mostra que a quantidade de compostos fenólicos extraídos da casca da manga tornou-se constante em 8 minutos de extração para praticamente todos os tratamentos estudados. Isso mostra que não houve aumento significativo no teor de compostos fenólicos nos tempos subsequentemente analisados (10, 15 e 20 minutos). A partir desse resultado foi definida como resposta do planejamento experimental o teor de compostos fenólicos extraídos em 8 minutos, cujos resultados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Teor de compostos fenólicos e rendimento obtido para a extração assistida por ultrassom com diferentes potências aplicadas e concentrações de etanol, para 8 minutos de extração.

Concentração de etanol (%)	Potência do ultrassom (%)	Compostos fenólicos (mg EAG/g b.s.)*	Rendimento (%)**
75	75	8,60 ± 0,06 ^{abc}	62
75	50	8,4 ± 0,8 ^{abc}	61
75	25	7,4 ± 0,3 ^{bcd}	52
50	75	9,8 ± 0,4 ^a	73
50	50	9,6 ± 0,4 ^{ab}	69
50	25	9,3 ± 0,8 ^{ab}	71
25	75	6,2 ± 0,8 ^{de}	41
25	50	6,0 ± 0,8 ^e	44
25	25	6,44 ± 0,03 ^{cde}	47
Extração exaustiva		13,82 ± 0,08	-

*Os resultados representam a média da duplicata da extração ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

**Rendimento do teor de compostos fenólicos extraídos com auxílio do ultrassom quando comparado com a extração exaustiva da casca da manga.

Os dados apresentados na Tabela 7 mostram que o processo de extração dos compostos fenólicos da casca da manga foi significativamente influenciado pela composição da solução de extração. Já a potência do ultrassom não é um parâmetro que influenciou significativamente na extração dos compostos fenólicos.

Cada condição de extração do planejamento experimental foi realizada em duplicata, sendo o coeficiente de variação menor do que 10 %, indicando boa repetibilidade do processo de extração estudado. O teor de compostos fenólicos totais extraídos em todos os ensaios do planejamento variou entre 6,0 (25 % de ultrassom e 50 % de etanol) a 9,8 (50 % de ultrassom e 75 % de etanol) mg EAG/g, o que corresponde respectivamente a 44 % e 73 % do total de compostos fenólicos presentes na casca da manga.

A Tabela 8 apresenta os coeficientes de regressão do modelo para a extração dos compostos fenólicos em função da potência do ultrassom aplicada e da concentração de etanol na solução de extração.

Tabela 8. Coeficientes de regressão para a extração dos compostos fenólicos da casca da manga.

Fator	Coefficiente da regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor*
Média	7,94	0,12	65,95	0,0000
Potência (L)	0,24	0,30	1,62	0,129
Potência (Q)	-0,02	0,25	-0,20	0,847
Concentração de etanol (L)	0,95	0,30	6,32	<0,05
Concentração de etanol (Q)	1,15	0,25	9,26	<0,05
Potência x Concentração de etanol (L)	0,37	0,37	1,99	0,067

*p < 0,05

Os termos linear (L) e quadrático (Q) da concentração de etanol foram significativos ($p < 0,05$). Assim, o modelo para extração dos compostos fenólicos da casca da manga considerando os parâmetros significativos pode ser descrito pela Equação 8:

$$\text{Compostos fenólicos} = 7,94 + 0,95 \cdot Et + 1,15 \cdot Et^2$$

Equação (8)

Os parâmetros não significativos foram incorporados à falta de ajuste para o cálculo do R^2 e da razão F. Através do teste do valor F pode-se concluir que o modelo obtido através da Equação 8 é preditivo para a extração dos compostos fenólicos na casca da manga. Uma vez que o valor de F_{cal} (53,68) é 7 vezes maior do que F_{tab} (6,94), demonstrando que o modelo de regressão obtido é significativo. O valor de R^2 foi de 0,865 indicando que o modelo pode explicar 87 % das respostas esperadas para o processo. A falta de ajuste não foi significativa ($p < 0,05$) para esse processo. Assim, o modelo expresso pela Equação 8 foi utilizado para geração da superfície de resposta apresentada na Figura 21.

Observa-se através da Figura 21 que a maior recuperação dos compostos fenólicos ocorreu em concentrações de etanol na solução de extração entre 50 e 60 %, independente da potência do ultrassom aplicada. Nota-se também que baixas concentrações de etanol (< 30 %) não foram capazes de realizar a extração dos compostos fenólicos da casca da manga, sendo necessárias concentrações maiores (50 e 60 %) para a extração efetiva desses compostos. Observa-se, também, que a potência do ultrassom aplicada não interferiu na extração dos compostos fenólicos da casca da manga.

A partir da análise da superfície de resposta obtida para a extração dos compostos fenólicos, observa-se que em concentrações entre 50 % a 60 % de etanol na solução de extração obteve-se a maior recuperação dos

compostos fenólicos, sendo que a potência do ultrassom aplicada não influenciou significativamente o rendimento da extração. O ponto ótimo para extração dos compostos fenólicos, visando reduzir o consumo de solvente (etanol) e o gasto energético, foi 50 % de etanol e sem a aplicação do ultrassom; para validação do modelo a extração dos compostos fenólicos foi realizada em triplicata nessa condição. O teor de compostos fenólicos extraídos no ponto ótimo de extração foi de $9,3 \pm 0,4$ mg EAG/g b.s., o que corresponde a 67 % do teor de compostos fenólicos totais presentes na casca da manga.

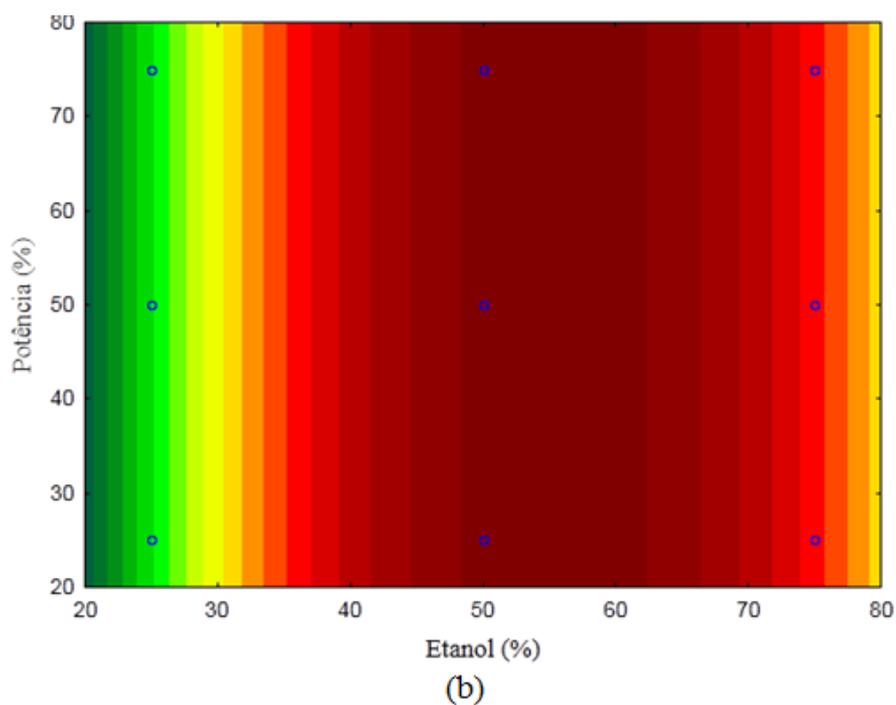
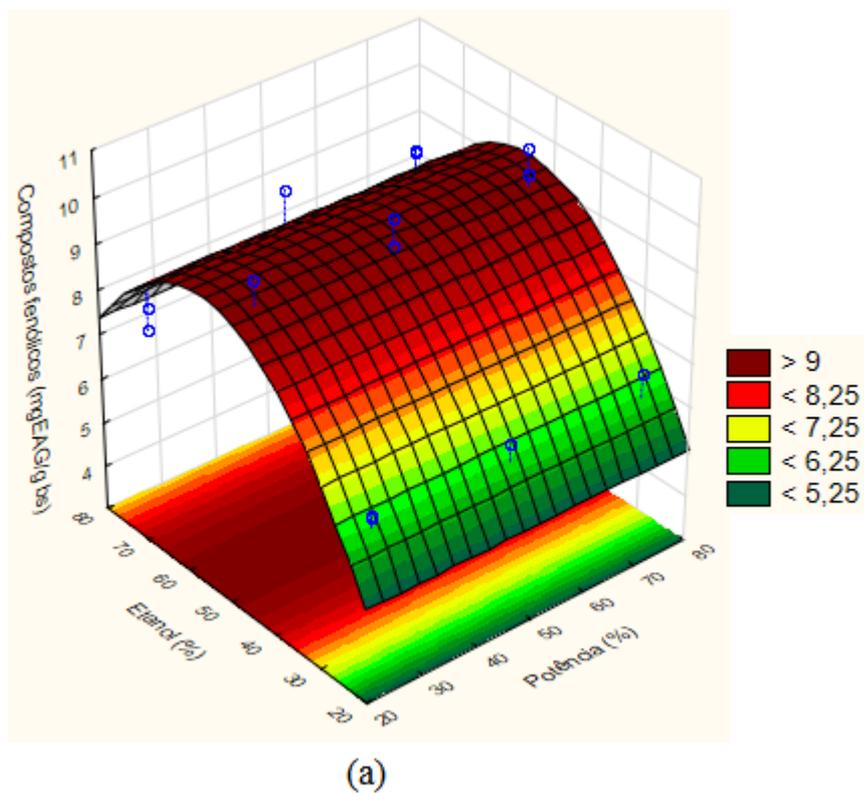


Figura 21 - Superfície de contorno (a) e diagrama de contorno (b) para a extração de compostos fenólicos totais da casca da manga (mg EAG/ g casca b.s.) em diferentes concentrações de etanol (%) e potência do ultrassom aplicada (%), após 8 minutos de extração.

Espada-Bellido et al. (2017) estudaram um processo de otimização da extração de antocianina e compostos fenólicos de amora, assistidos por ultrassom. Os parâmetros estudados para otimização do processo foram a composição do solvente de extração, a temperatura de extração, a amplitude do ultrassom, os ciclos das ondas de ultrassom, o pH e a razão sólido/líquido. Os resultados mostraram que a temperatura de extração e a composição da solução de extração foram os fatores que mais afetaram a eficiência do processo de extração de antocianinas e compostos fenólicos da amora. Assim como nesse estudo de extração de compostos fenólicos da casca da manga a amplitude do ultrassom aplicada no processo de extração na amora também não foi significativa.

Em um estudo sobre a extração de compostos fenólicos de resíduos de alcachofra assistido por ultrassom, Rabelo et al. (2016) estudaram a composição da solução de extração e a potência do ultrassom aplicada no processo. Os resultados mostram que o parâmetro que mais influenciou no teor de compostos fenólicos extraídos do resíduo de alcachofra foi a composição da solução de extração. A potência do ultrassom foi significativa apenas no nível mais baixo testado, de $180,9 \text{ W/cm}^2$; para as demais potências estudadas a aplicação do ultrassom não foi efetiva no aumento do rendimento da extração dos compostos fenólicos no resíduo de alcachofra.

5.2.3 Extração e quantificação de carotenoides da casca da manga

A partir do resultado obtido na otimização do processo de extração dos compostos fenólicos da casca da manga procedeu-se a quantificação dos carotenoides. Para tanto foram mantidos constantes o tempo de extração (8 minutos), a temperatura ($30 \text{ }^\circ\text{C}$), a velocidade de agitação, a razão sólido/líquido (1:25, m/v) e a composição da solução de extração (solução aquosa com 50 % de etanol) Procedeu-se, também, a extração dos

carotenoides da casca da manga com solução aquosa de acetona na concentração de 50 %, mantendo-se constante todos os demais parâmetros de extração, com o objetivo de avaliar a influência do solvente utilizado na extração de carotenoides da casca da manga.

O extrato obtido no processo de extração dos compostos fenólicos da casca da manga apresentou um teor de $0,31 \pm 0,03$ μg de β -caroteno/g casca b.s., o que corresponde a cerca de 0,2 % do teor total de carotenoides presentes na casca da manga (determinado pela extração exaustiva – 157 μg de β -caroteno/g casca b.s.). No extrato obtido nas mesmas condições, porém no lugar do etanol foi utilizada a acetona, o teor de carotenoides extraídos foi de $1,1 \pm 0,1$ μg de β -caroteno/g casca b.s., que equivale a cerca de 0,7 % do total presente na casca da manga. Houve diferença significativa entre as médias observadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), mostrando que o processo de extração de carotenoides com acetona foi mais efetivo na extração desse composto do que a extração com etanol.

Contudo, os teores de carotenoides obtidos em ambos os processos de extração, com acetona e com etanol, obtiveram uma recuperação extremamente baixa, inferior a 1 %, mostrando que os parâmetros de extração tempo, agitação, razão sólido:líquido e solvente determinados como ótimos para a recuperação dos compostos fenólicos não são os ideais para a obtenção de um extrato rico em carotenoides a partir da casca da manga. Tal fato pode ser explicado por uma das principais diferenças entre esses compostos, a polaridade. Os compostos fenólicos são compostos polares, de forma que o processo de extração otimizado com etanol foi capaz de extrair 67 % do total de compostos fenólicos da casca da manga; já os carotenoides são compostos apolares encontrados dentro da célula vegetal, e o seu processo de extração com solução aquosa com etanol e acetona na concentração de 50 % não foram eficientes. Não foi possível a partir de um

mesmo processo de extração a obtenção de um extrato rico tanto em compostos fenólicos quanto carotenoides provenientes da casca da manga.

Nesses extratos também foi determinado o perfil qualitativo de carotenoides por CLAE-DAD, os quais foram comparados com o extrato obtido da extração exaustiva da casca da manga. O cromatograma obtido da extração exaustiva da casca da manga é apresentado na Figura 23 e mostra 11 carotenoides identificados a partir da comparação dos tempos de eluição dos compostos, da observação das características dos picos no espectro UV-Vis e da injeção do padrão de *all-trans*- β -caroteno. O cromatograma obtido para a extração dos carotenoides com solução aquosa com 50 % de acetona é apresentado na Figura 24 (Rodrigues, Mariutti e Mercadante 2013).

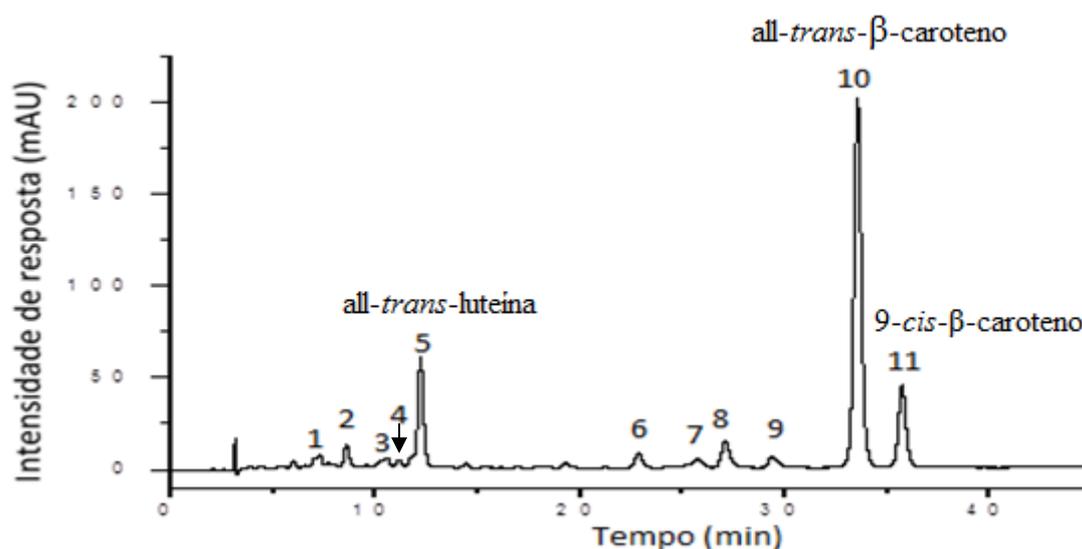


Figura 22 - Cromatograma do perfil de carotenoides na casca da manga seca em estufa a 60 °C a partir da extração exaustiva. Identificado de acordo com Tabela 9.

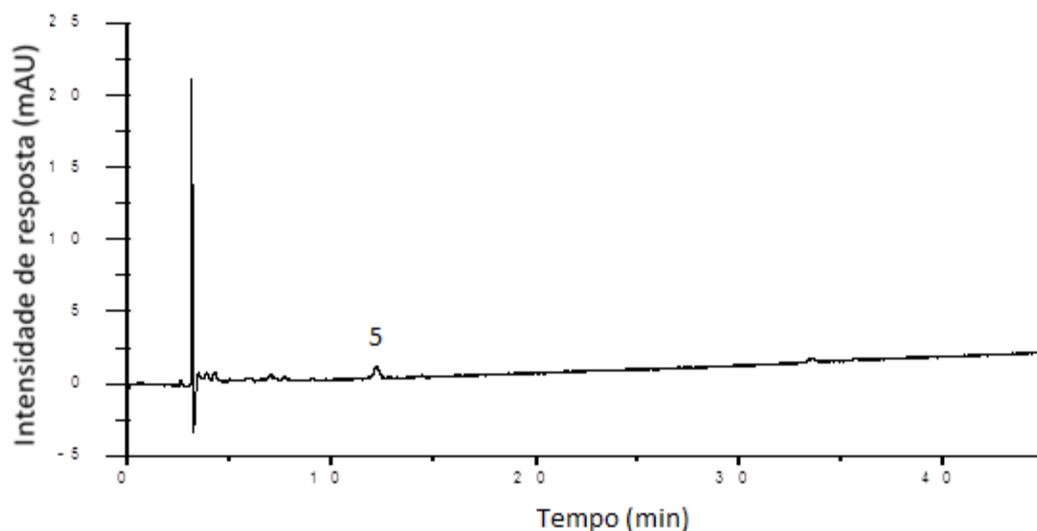


Figura 23 - Cromatograma do perfil de carotenoides do processo de extração com acetona (acetona 50 %, 8 minutos de agitação, 30 °C).

Identificado de acordo com Tabela 9.

O *all-trans*- β -caroteno é o carotenoide majoritário ($89 \pm 5 \mu\text{g g}^{-1}$) na casca da manga seca, obtido a partir da extração exaustiva, representando 54,7 % do total de carotenoides, seguido pelo *all-trans*-luteína ($21,1 \pm 0,8 \mu\text{g g}^{-1}$) e o 9-*cis*- β -caroteno ($21 \pm 1 \mu\text{g g}^{-1}$). Outros carotenoides encontrados em menor concentração na casca da manga foram identificados, como o 13-*Z*- β -caroteno, (all-*E*)- β -criptoxantina, all-*E*-luteoxantina, *all-trans*- β -caroteno, 15-*cis*- β -caroteno, *all-trans*-violaxantina, 9-*Z* violaxantina e 9-*Z* violaxantina.

A Tabela 9 apresenta a concentração de cada um dos carotenoides identificados na casca da manga seca em μg de equivalente em *all-trans*- β -caroteno/g casca b.s. e os dados utilizados para a sua identificação, tempos de eluição dos compostos e características dos picos no espectro UV-Vis (Rodrigues, Mariutti e Mercadante 2013).

Tabela 9. Concentração, tempo de retenção e comprimento de onda dos carotenoides identificados na casca de manga.

Pico	Carotenoide	Concentração (μg de equivalente <i>all-trans</i> - β -caroteno /g b.s.)	Tempo de retenção (min)*	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)
1	<i>all-trans</i> -violaxantina	$2,5 \pm 0,1$	7,3	415, 439, 468
2	<i>all-E</i> -luteoxantina	$4,6 \pm 0,5$	8,6	398, 420, 448
3	9-Z violaxantina	$2,5 \pm 0,1$	10,5	325, 412, 433, 460
4	9Z luteoxantina	$2,5 \pm 0,8$	11,1	398, 417, 443
5	<i>all-trans</i> -luteína	23 ± 1	12,2	422, 445, 472
6	(<i>all-E</i>)- β -criptoxantina	$4,3 \pm 0,4$	22,8	418, 450, 478
7	15- <i>cis</i> - β -caroteno	$3,4 \pm 0,4$	25,7	410, 449, 470
8	13-Z- β -caroteno	$7,0 \pm 0,8$	27,1	340, 415, 440, 460
9	<i>all-trans</i> - α -caroteno	$3,8 \pm 0,4$	29,4	420, 448, 474
10	<i>all-trans</i> - β -caroteno	90 ± 4	33,5	422, 450, 477
11	9- <i>cis</i> - β -caroteno	21 ± 1	35,7	418, 448, 473

*Tempo de retenção em uma coluna C₃₀.

Não foi possível a obtenção do cromatograma com o extrato obtido do ponto ótimo de extração dos compostos fenólicos devido a sua baixa concentração na amostra. No extrato de carotenoides com acetona (50 %) somente foi possível a identificação do carotenoide *all-trans*-luteína (Figura 25), que apresenta característica mais polar, devido aos dois grupos hidroxila presentes na sua estrutura, confirmando a baixa eficiência do processo de extração dos carotenoides da casca da manga, possivelmente devido a

polaridade do solvente utilizado. Já que o carotenoide majoritário na casca da manga é o *all-trans*- β -caroteno, um composto de característica extremamente apolar, constituído apenas de moléculas de carbono e hidrogênio, o mesmo não foi identificado no extrato obtido com solução aquosa de extração com 50 % de acetona.

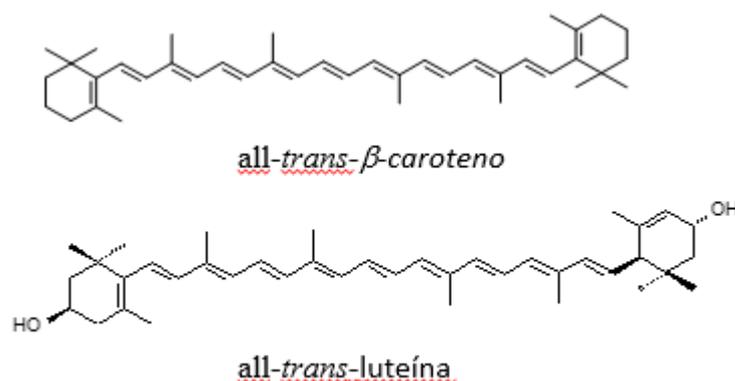


Figura 24 – Estrutura química dos carotenoides *all-trans*- β -caroteno e *all-trans*-luteína.

5.3 Extração e caracterização da pectina da casca da manga

Essa etapa do trabalho teve como objetivo estudar a extração da pectina da casca da manga com auxílio do ultrassom. A extração da pectina foi realizada a partir do resíduo da extração dos compostos fenólicos obtidos com solução aquosa com 50 % de etanol, sob agitação (sem a aplicação do ultrassom) durante 8 min e a partir da casca da manga apenas hidratada, ou seja, que não passou pela extração prévia dos compostos fenólicos. Além disso, foi verificada a influência dessa extração prévia dos compostos fenólicos no rendimento e na qualidade da pectina obtida.

Com o objetivo de verificar a influência da extração prévia dos compostos fenólicos e da potência do ultrassom aplicado durante o processo de extração, mantiveram-se constantes alguns parâmetros durante todo o processo. A temperatura de extração foi mantida constante em 85 °C, a razão

sólido/líquido foi 1:30 (m/v), a solução de extração utilizada foi o ácido nítrico (pH $2,00 \pm 0,02$), o tempo de extração foi de 10 minutos para os experimentos com ultrassom, em que a potência aplicada foi de 75 %, e controle, ou seja, sem a aplicação do ultrassom.

Para o processo de extração convencional da pectina da casca da manga o tempo de processamento foi de 30 minutos, mantendo-se constantes todas as demais variáveis do processo (temperatura, razão sólido/líquido, agitação, pH da solução de extração)

Na Tabela 10 podem ser observados os resultados obtidos para o rendimento, o teor de ácido galacturônico, o grau de esterificação e o pH da pectina extraída da casca da manga a partir dos diferentes processos de extração.

Tabela 10. Caracterização da pectina da casca da manga obtida por extração convencional, com e sem a aplicação do ultrassom.

Análise	Convencional	Ultrassom 75%		Controle	
		Resíduo da extração de fenólicos	Casca hidratada	Resíduo da extração de fenólicos	Casca hidratada
Rendimento (%)	$5,4 \pm 0,4^b$	$8,6 \pm 0,3^a$	$8,1 \pm 0,6^a$	$5,61 \pm 0,07^b$	$6,2 \pm 0,5^b$
Teor de ácido galacturônico (%)	$80,71 \pm 0,09^a$	70 ± 3^{ab}	76 ± 5^{ab}	66 ± 3^b	63 ± 5^b
GE (%)	67 ± 1^a	58 ± 4^a	61 ± 6^a	64 ± 3^a	67 ± 4^a
pH	$4,18 \pm 0,05^a$	$4,4 \pm 0,1^a$	$4,35 \pm 0,09^a$	$4,4 \pm 0,1^a$	$4,4 \pm 0,1^a$

Os resultados representam a média dos experimentos realizados em triplicata \pm desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Não houve diferença significativa no rendimento da pectina, no teor de ácido galacturônico e no grau de esterificação da pectina extraída do resíduo obtido da extração de compostos fenólicos e da pectina extraída diretamente da casca da manga hidratada. Isso indica que a etapa de extração prévia dos compostos fenólicos, a partir da solução aquosa com 50 % de etanol por 8 minutos, não foi capaz de remover a pectina da matriz vegetal, bem como não alterou a qualidade da pectina obtida.

A potência do ultrassom aplicada foi efetiva no aumento do rendimento da pectina extraída, tanto do resíduo obtido da extração dos compostos fenólicos quanto da casca hidratada. O rendimento da pectina extraída com auxílio do ultrassom do resíduo da extração dos compostos fenólicos foi 53 % maior do que o rendimento obtido a partir do experimento controle (sem aplicação de ultrassom). Para os experimentos realizados com a casca apenas hidratada o aumento foi de 31 % no rendimento para a extração da pectina assistida por ultrassom. Portanto, o ultrassom atuou aumentando significativamente o rendimento de pectina extraída.

Com relação ao resultado obtido para a extração convencional e os experimentos assistidos por ultrassom, nota-se que o ultrassom atuou não só aumentando significativamente o rendimento da pectina extraída com aumento médio de 50 %, mas também reduzindo o tempo de processamento necessário. O tempo para a extração convencional da pectina é de 30 minutos, enquanto que para o processo assistido por ultrassom é de apenas 10 minutos. O resultado obtido para o rendimento da pectina extraída da casca da manga é diferente do obtido na etapa anterior do estudo, em que o ultrassom não foi significativo no processo de extração de compostos fenólicos da mesma matriz.

Wang et al. (2016) encontraram rendimentos entre 16,70 % e 17,15 % para a extração da pectina da casca da manga, cultivar *Tainong No 1*, a temperatura de 80 °C, assistida por ultrassom (20 kHz; 500W), por 15

minutos, na razão 1:40, com ácido cítrico a pH 2,5. Porém para Wang et al. (2016), o rendimento da pectina extraída com o ultrassom não foi superior ao do tratamento controle, diferentemente do resultado obtido nesse estudo, em que a aplicação do ultrassom foi significativa no aumento do rendimento da pectina extraída.

Wang et al. (2015) realizaram a otimização da extração da pectina da casca de *grapefruit* utilizando o ultrassom e observaram um efeito sinérgico entre a aplicação do ultrassom e o aquecimento no rendimento da pectina extraída. Rehman et al. (2004), em um estudo para a otimização das condições de extração e precipitação da pectina da casca da manga, obtiveram o rendimento de 21,0 % a partir da manga finamente triturada (80 mesh), desengordurada em solução de ácido sulfúrico a pH 2,5, a 80 °C por 120 minutos. Oliveira et al. (2016) obtiveram maiores rendimentos na extração da pectina da casca do maracujá com a aplicação do ultrassom e altas temperaturas, devido ao aumento da solubilidade da pectina a temperaturas mais elevadas.

De acordo com diversos estudos o ultrassom aumenta a transferência de massa de compostos presentes dentro da célula para o solvente de extração, contudo ainda são poucos os estudos que demonstram as alterações que ocorrem a nível celular pela atuação do ultrassom (Goula et al. 2017; Guo et al. 2017; Patil e Akamanchi 2017). Pieczywek et al. (2017) estudaram os efeitos da aplicação do ultrassom na casca da maçã e observaram, através de microscopia de varredura confocal, a formação de espaços intercelulares, a diminuição da firmeza e o aumento da solubilização da pectina presente na parede celular. Além disso, estudos indicam a existência de uma sinergia entre a aplicação do ultrassom e o aquecimento nos processos de extração, pelo aumento da taxa de dissolução e aumento da taxa de hidrólise da protopectina presente na parede celular.

A combinação entre o ultrassom e temperaturas mais elevadas de processamento aumentou tanto a solubilidade dos compostos de interesse, quanto a sua transferência de massa, sendo um importante parâmetro nos processos de extração. Além disso, o aumento da temperatura em processos com aplicação do ultrassom diminui a tensão superficial do líquido, afetando a formação e o colapso das bolhas formadas. Em temperaturas mais baixas ocorre a formação de poucas bolhas, com alta energia de colapso, já em temperaturas mais elevadas, como no caso da extração da pectina da casca da manga ocorre a formação de grande quantidade de bolhas pela aplicação do ultrassom, porém com energia de colapso individual inferior (Sun et al. 2011; Patil e Akamanchi 2017).

Com relação ao teor de ácido galacturônico presente na pectina extraída da casca da manga, observou-se que os valores variaram de 63 % a 81 %. Não houve diferença estatística entre os teores de ácido galacturônico observados nas pectinas extraídas pelo processo convencional e com o auxílio do ultrassom. Todos os polímeros apresentaram estatisticamente o teor mínimo de 65 % de ácido galacturônico exigido pela FAO para classificação como pectina comercial.

A extração da pectina da casca da manga vem sendo estudada por diversos autores, sendo que o principal defeito encontrado no polímero extraído da casca da manga é o baixo teor de ácido galacturônico relatado por diversos estudos (Jamsazzadeh Kermani, Shpigelman, Pham, Van Loey, & Hendrickx, 2015). Assim como o presente trabalho, em que foi possível a extração de um polímero pectico classificado como pectina, Nagel et al. (2014) obtiveram através do estudo de 19 diferentes processos de recuperação de pectina da casca da manga das cultivares *Maha Chanok* e *Nam Dokmai* teor de ácido galacturônico entre 65 % a 83 %. Por outro lado, estudos como de Wang et al. (2016) encontraram teores de ácido galacturônico na extração da pectina da casca da manga, da cultivar chinesa

‘*Tainong No. 1*’, assistida por ultrassom entre 29,35 a 53,35 %, não podendo, portanto, serem considerados pectina comercial de acordo com a FAO. Jamsazzadeh Kermani et al. (2015) também estudaram a extração da pectina da casca da manga da cultivar *Keitt* com ácido cítrico e encontraram 41 % de ácido galacturônico.

É importante ressaltar que a composição e propriedades da pectina variam com a sua fonte, assim como os processos aplicados para extração e purificação, conforme relatado por (Damodaran, Parkin e Fennema 2007). No que diz respeito à extração de pectina da casca da manga da cultivar *Tommy Atkins*, Geerkens et al., (2015) avaliaram a influência da cultivar, do grau de maturação, do tamanho da casca, da etapa de branqueamento, secagem e irradiação sobre a qualidade da pectina extraída. Os resultados obtidos mostraram que o tamanho da casca usada na extração, bem como o processo de branqueamento e o grau de maturação influenciaram no teor de ácido galacturônico encontrados, sendo que o teor máximo obtido para a casca da manga *Tommy Atkins* foi de 48 %. Não foram encontrados estudos na literatura que obtiveram teor de ácido galacturônico de acordo com mínimo de 65 % exigido pela legislação, diferentemente do presente trabalho que encontrou valores superiores aos exigidos pela legislação, para a cultivar *Tommy Atkins*.

Os resultados do grau de esterificação da pectina extraída da casca da manga são apresentados na Tabela 10 e representam a quantidade de grupos carboxila da cadeia principal da pectina que está esterificada com grupos metil ou acetil. Por definição, polímeros com mais da metade (> 50 %) dos grupos esterificados são consideradas como alto grau de esterificação, e quando menos da metade (< 50 %) dos grupos estão esterificados são considerados de baixo grau de esterificação (Fennema 2007). Processos mais rápidos de extração da pectina levam à obtenção de polímeros de maior grau de esterificação. Polímeros pécnicos considerados de alto grau de

esterificação formam gel na presença de altas concentrações de açúcar (> 65 %) e baixo pH, sendo normalmente utilizadas em preparações açucaradas como geleias e doces de frutas, por exemplo. Já as pectinas de baixo grau de esterificação formam gel na presença de íons bivalentes, como o cálcio (Ca^{2+}), sendo utilizadas para formação de gel em produtos como baixo teor de açúcar, como geleias e doces *diet*.

As pectinas extraídas da casca da manga estudadas são classificadas como alto grau de esterificação e variaram de 58 % a 67 % dos grupos esterificados. As pectinas com alto grau de esterificação são as mais utilizadas pela indústria alimentícia, como agente geleificante, espessante e estabilizante de produtos açucarados, como geleias e sobremesas. Não houve diferença significativa no grau de esterificação das pectinas obtidas nesse trabalho, independente do tratamento de extração, sendo assim a extração prévia dos compostos fenólicos não alterou esse parâmetro de qualidade da pectina extraída sequencialmente.

O pH da pectina é um fator que influencia na formação do gel no produto alimentício em que ela for aplicada. As pectinas de alto grau de esterificação (> 50 %), como as obtidas nesse estudo, formam gel em soluções com pH entre 2,0 e 3,5 e altas concentrações de açúcar (> 65 %). Em muitas preparações alimentícias é necessária a adição de ácidos, como o ácido cítrico ou ácido ascórbico, que atuam como conservadores, antioxidantes e acidulantes naturais, além dessas funções tecnológicas a adição do ácido auxilia na diminuição do pH necessário para a formação de gel em produtos açucarados adicionados de pectina. O pH das soluções de pectina extraídas da casca da manga variou de 4,18 a 4,4 e não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si, mostrando que nem a extração prévia dos compostos fenólicos, nem os experimentos assistidos por ultrassom alteraram o pH das soluções obtidas.

A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos para os parâmetros de cor

da pectina extraída da casca da manga assistida por ultrassom e controle, do resíduo da extração dos compostos fenólicos, da casca apenas hidratada e da extração convencional de pectina. Nenhum dos parâmetros colorimétricos analisados para a pectina extraída da casca da manga foi significativamente afetado pela extração prévia dos compostos fenólicos, de forma que essa etapa não afetou a coloração da pectina obtida em cada um dos tratamentos estudados. A pectina extraída a partir do resíduo da extração dos compostos fenólicos e da casca da manga apenas hidratada através do experimento assistido por ultrassom apresentaram valores de luminosidade menores e valores de croma maiores do que o processo de extração controle e convencional. Portanto, a pectina obtida através da extração assistida por ultrassom apresentou coloração mais escura, devido à menor luminosidade, e coloração mais viva, devido ao maior valor de croma. Os valores do ângulo de tonalidade obtidos para as pectinas extraídas da casca da manga mostram que a cor de todas elas são amareladas, independente do tratamento utilizado na extração.

Tabela 11. Parâmetros de cor da pectina da casca da manga obtida da extração assistida por ultrassom (potência 75 %) e controle, para o resíduo da prévia extração dos compostos fenólicos e da casca apenas hidratada.

Parâmetro	Convencional	Ultrassom 75 %		Controle	
		Resíduo da extração de fenólicos	Casca hidratada	Resíduo da extração de fenólicos	Casca hidratada
L^*	$95,76 \pm 0,04^a$	$94,36 \pm 0,04^b$	$94,5 \pm 0,1^b$	$95,7 \pm 0,1^a$	$95,69 \pm 0,05^a$
a^*	$-0,19 \pm 0,01^a$	$-0,29 \pm 0,06^a$	$-0,36 \pm 0,07^a$	$-0,18 \pm 0,06^a$	$-0,193 \pm 0,004^a$
b^*	$1,9 \pm 0,3^b$	$4,3 \pm 0,3^a$	$4,9 \pm 0,8^a$	$1,9 \pm 0,2^b$	$2,06 \pm 0,06^b$
C_{ab}^*	$1,9 \pm 0,3^b$	$4,3 \pm 0,3^a$	$4,9 \pm 0,8^a$	$1,9 \pm 0,2^b$	$2,06 \pm 0,06^b$
h_{ab}	96 ± 1^a	95 ± 1^a	$94,2 \pm 0,1^a$	$93,8 \pm 0,5^a$	$95,37 \pm 0,07^a$

Os resultados representam a média dos experimentos realizados em triplicata \pm desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$).

Schieber et al. (2003) estudaram a recuperação dos compostos fenólicos da maçã através da aplicação de uma coluna de adsorção previamente à extração da pectina e obtiveram uma redução dos valores de croma e ângulo de tonalidade mostrando um menor amarelamento/escurecimento da pectina extraída, melhorando, assim, a qualidade do produto obtido, pela menor interferência da coloração da pectina no produto alimentício em que ela é adicionada. No caso do presente estudo, a extração prévia dos compostos fenólicos da casca da manga não afetou significativamente os resultados de croma e ângulo de tonalidade da pectina obtida para a extração com ultrassom e controle.

A diferença de cor é um parâmetro utilizado para verificar se as variações das coordenadas cromáticas (a^* e b^*) e da luminosidade de duas amostras são percebidas visualmente. De acordo com a ISO 12647-2, que dispõe sobre a qualidade no processo de reprodução gráfica, a diferença entre

duas cores é quase imperceptível para valores de ΔE até 2, a diferença de cor é tolerável para valor de ΔE até 5, já para valores superiores a 10 são visivelmente diferentes.

A diferença total de cor para as pectinas foi calculada tomando inicialmente a pectina extraída da casca da manga pelo processo convencional como padrão. A diferença de cor da pectina extraída com ultrassom, quando comparada com a extração convencional, foi de 2,8 e 3,3 quando utilizado, respectivamente, o resíduo da extração prévia de fenólicos e a casca da manga apenas hidratada. A diferença total de cor também pode ser calculada tomando como padrão a pectina extraída da casca da manga apenas hidratada, comparando sua coloração com a pectina obtida do resíduo da extração dos compostos fenólicos tanto para o experimento controle, quanto para a extração assistida por ultrassom. Os valores obtidos para a diferença total de cor foram de 0,62 e 0,16, respectivamente, para a pectina obtida com auxílio do ultrassom e através do experimento controle.

Os valores obtidos para a diferença total de cor da casca da manga tomando como padrão a extração convencional de pectina, comparada aos experimentos de extração assistidos por ultrassom foram superiores a 2,0 (2,8 e 3,3) sendo, portanto imperceptíveis visualmente. Contudo, a diferença apresentada ainda é tolerável ($< 5,0$). Já quando os processos de extração da pectina da casca apenas hidratada foram considerados como padrão, a diferença total de cor obtida foi inferior a 2,0 (0,62 e 0,16) podendo assim afirmar que nesse caso a diferença total de cor não é visualmente percebida. Sendo assim, a extração de pectina assistida por ultrassom afetou visualmente a cor da pectina extraída. Por outro lado, a extração prévia dos compostos fenólicos da casca da manga não afetou visivelmente a coloração da pectina extraída, sendo, portanto, possível a obtenção de um extrato rico em compostos fenólicos e pectina de um resíduo da indústria alimentícia, a casca da manga.

Capítulo 6 – Conclusões e Sugestões para trabalhos futuros

Nesse capítulo são apresentadas as conclusões deste trabalho que teve como objetivo principal avaliar a extração sequencial de compostos fenólicos, carotenoides e pectina da casca da manga assistida por ultrassom. Os resultados mostraram que o método de secagem e o branqueamento térmico afetaram significativamente o teor de compostos fenólicos, de carotenoides e a coloração da casca da manga. Os resultados do planejamento fatorial mostraram que a potência do ultrassom não influenciou no processo de extração de compostos fenólicos da casca da manga enquanto que a composição da solução aquosa com etanol afetou significativamente ($p < 0,05$) o teor de compostos fenólicos extraídos. Na melhor condição de extração (50 % de etanol e sem a aplicação do ultrassom) foram extraídos 67 % do total de compostos fenólicos presentes na casca da manga. As condições ótimas de extração dos compostos fenólicos não foram as ideais para a extração dos carotenoides, já que o rendimento obtido foi inferior a 1 % do total de carotenoides presentes na casca da manga.

Os resultados para a extração sequencial de pectina mostraram que o emprego do ultrassom aumentou o rendimento da extração da pectina. Além disso, os resultados mostraram que a extração prévia dos compostos fenólicos não afetou significativamente o rendimento e qualidade da pectina extraída. Portanto, a metodologia estudada no presente trabalho se mostra interessante para a extração de compostos de alto valor agregado, como os compostos fenólicos e a pectina, em razão de utilizar como fonte um resíduo da indústria de processamento da manga.

Como sugestão para trabalhos futuros, realizar a otimização do processo de extração da pectina do resíduo de extração dos compostos fenólicos. Além de outras análises para melhor caracterização do polímero obtido, como determinação da massa molar e capacidade de retenção de água e óleo. Finalmente, destaca-se que seria interessante o estudo das

propriedades reológicas dos polímeros da extração da pectina da casca da manga, como, por exemplo, a determinação da viscosidade aparente.

Referências

- Agama-acevedo, Edith, Juscelino Tovar, Jenny Ruales e Luis A Bello-pe. 2007. “Fibre Concentrate from Mango Fruit : Characterization , Associated Antioxidant Capacity and Application as a Bakery Product Ingredient.” *Food Science and Technology* 40: 722–29.
- Ajila, C. M., S. G. Bhat e U. J S Prasada Rao. 2007. “Valuable Components of Raw and Ripe Peels from Two Indian Mango Varieties.” *Food Chemistry* 102(4): 1006–11.
- Ajila, C. M., K. A. Naidu, S. G. Bhat e U. J S Prasada Rao. 2007. “Bioactive Compounds and Antioxidant Potential of Mango Peel Extract.” *Food Chemistry* 105(3): 982–88.
- Amarowicz, R et al. 2004. “Free-Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of Selected Plant Species from the Canadian Prairies.” *Food Chemistry* 84(4): 551–62.
- AOAC, Official method os analysis of. 1997. “AOAC.”
- Aziah, Noor et al. 2012. “Evaluation of Processed Green and Ripe Mango Peel and Pulp Flours (*Mangifera Indica* Var . Chokanan) in Terms of Chemical Composition , Antioxidant Compounds and Functional Properties.” *Food Agriculture: 557–63.*
- Behsnilian, Diana e Esther Mayer-Miebach. 2017. “Impact of Blanching, Freezing and Frozen Storage on the Carotenoid Profile of Carrot Slices (*Daucus Carota* L. Cv. Nutri Red).” *Food Control* 73: 761–67.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516305217>.
- Blumenkrantz, Nelly e Gustav Asboe-Hansen. 1973. “New Method for Quantitative Determination of Uronic Acids.” *Analytical Biochemistry* 54(2): 484–89.

Boчек, A. M, N. M. Zabivalova e G. A. Petropavlovskii. 2000. “Determination of the Esterification Degree of Polygalacturonic.” *Russian Journal of Applied Chemistry* 74: 796–99.

Borges, Ana Lúcia et al. 2005. *Manga*. Brasília.

Canteri, Maria H G, Agnes de P Scheer e Lirian Moreno. 2012. “Pectina : Da Matéria-Prima Ao Produto Final.” *Polímetos* 22: 149–57.

Chemat, Farid et al. 2017. “Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review.” *Ultrasonics Sonochemistry* 34: 540–60.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.

Chemat, Farid e Muhammed Kamran Khan. 2011. “Ultrasonics Sonochemistry Applications of Ultrasound in Food Technology : Processing , Preservation and Extraction.” *Ultrasonics - Sonochemistry* 18(4): 813–35.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>.

Chen, J. P., C. Y. Tai e B. H. Chen. 2004. “Improved Liquid Chromatographic Method for Determination of Carotenoids in Taiwanese Mango (*Mangifera Indica* L.)” *Journal of Chromatography A* 1054(1–2): 261–68.

Cheng, Xinfeng et al. 2015. “The Principles of Ultrasound and Its Application in Freezing Related Processes of Food Materials : A Review.” *Ultrasonics - Sonochemistry* 27: 576–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.015>.

Ciencor. 2016. “Banho de Ultrasom.”

[http://www.ciencor.com.br/catalogo/paginas/Banho de ultrasom 3d.htm](http://www.ciencor.com.br/catalogo/paginas/Banho%20de%20ultrasom%203d.htm)
(December 31, 2016).

Crozier, Alan et al. 2009. “Dietary Phenolics : Chemistry , Bioavailability and Effects on Health.” *Nature Products Reports* 26(8): 965–1096.

Damodaran, Srinivasan, Kirk L. Parkin e Owen R. Fennema. 2007. *Fennema`s Food Chemistry*.

Delphi, Ladan e Hourri Sepehri. 2016. “Apple Pectin: A Natural Source for Cancer Suppression in 4T1 Breast Cancer Cells in Vitro and Express p53 in Mouse Bearing 4T1 Cancer Tumors, in Vivo.” *Biomedicine & Pharmacotherapy* 84: 637–44.

Endress, Hans Ulrich e Frank Mattes. 2009. “Pectin.” In *Fiber Ingredients: Food Applications and Health-Benefits*, , 135–60.

Espada-Bellido, Estrella et al. 2017. “Optimization of the Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins and Total Phenolic Compounds in Mulberry (Morus Nigra) Pulp.” *Food Chemistry* 219: 23–32.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616315175> (March 13, 2017).

“FAOSTAT.” 2014. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (December 29, 2016).

Freitas de Oliveira, Cibele et al. 2016. “Extraction of Pectin from Passion Fruit Peel Assisted by Ultrasound.” *LWT - Food Science and Technology* 71: 110–15.

Geerkens, Christian Hubert et al. 2015. “Mango Pectin Quality as Influenced by Cultivar, Ripeness, Peel Particle Size, Blanching, Drying, and Irradiation.” *Food Hydrocolloids* 51: 241–51.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.022>.

Gituanja, Simon N. 2012. “Studies on Mango (Mangifera Indica , L .) Kernel Fat of Some Kenyan Varieties in Meru.” : 1567–75.

Goula, Athanasia M., Maria Ververi, Anna Adamopoulou e Kyriakos Kaderides. 2017. “Green Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Pomegranate Wastes Using Vegetable Oils.” *Ultrasonics Sonochemistry* 34:

821–30. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417716302619>
(March 22, 2017).

Guiamba, Isabel, Lília Ahrné, Maida A M Khan e Ulf Svanberg. 2016. “Retention of Beta-Carotene and Vitamin C in Dried Mango Osmotically Pretreated with Osmotic Solutions Containing Calcium or Ascorbic Acid.” *Food and Bioproducts Processing* 98: 320–26.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2016.02.010>.

Guo, Xiao et al. 2017. “Ultrasound-Assisted Extraction of Polysaccharides from *Rhododendron Aganniphum* : Antioxidant Activity and Rheological Properties.” *Ultrasonics Sonochemistry* 38: 246–55.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417717301128>.

“Hortiescolha - Hortipedia.” 2016.
<http://www.hortiescolha.com.br/hortipedia/produto/manga> (December 30, 2016).

IBGE. 2013. *40 Produção Agrícola Municipal - Culturas Temporárias E Permanentes - 2013*. Rio de Janeiro.

IPPA. 2008. “IPPA: International Pectin Producers Association.”
http://www.ippa.info/what_is_pectin.htm (December 31, 2016).

Jahurul, M H A et al. 2015. “Mango (*Mangifera Indica* L .) by-Products and Their Valuable Components : A Review.” *FOOD CHEMISTRY* 183: 173–80.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.046>.

Jamsazzadeh Kermani, Zahra et al. 2015. “Functional Properties of Citric Acid Extracted Mango Peel Pectin as Related to Its Chemical Structure.” *Food Hydrocolloids* 44: 424–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.018>.

José, Emanuel et al. 2016. “Rapid and Non-Destructive Determination of Quality Parameters in the ‘ Tommy Atkins ’ Mango Using a Novel Handheld near

Infrared Spectrometer.” 197: 1207–14.

- Khorasani, Alireza Chackoshian e Seyed Abbas Shojaosadati. 2017. “Pectin-Non-Starch Nanofibers Biocomposites as Novel Gastrointestinal-Resistant Prebiotics.” *International Journal of Biological Macromolecules* 94: 131–44. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016310662>.
- Kiani, Hossein, Zhihang Zhang e Da-wen Sun. 2015. “Experimental Analysis and Modeling of Ultrasound Assisted Freezing of Potato Spheres.” *Ultrasonics - Sonochemistry* 26: 321–31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.02.015>.
- Kim, Hyeonji et al. 2012. “Induction of Apoptosis by Ethanolic Extract of Mango Peel and Comparative Analysis of the Chemical Constitutes of Mango Peel and Flesh.” *Food Chemistry* 133(2): 416–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.053>.
- Koubala, B. B. et al. 2008. “Effect of Extraction Conditions on Some Physicochemical Characteristics of Pectins from ‘Améliorée’ and ‘Mango’ mango Peels.” *Food Hydrocolloids* 22(7): 1345–51.
- Larrauri, J.A., P. Rupérez, B. Borroto e F. Saura-Calixto. 1996. “Mango Peels as a New Tropical Fibre: Preparation and Characterization.” *LWT - Food Science and Technology* 29(8): 729–33.
- Luque-García, J. L., e M. D. Luque De Castro. 2004. “Ultrasound-Assisted Soxhlet Extraction: An Expeditive Approach for Solid Sample Treatment - Application to the Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds.” *Journal of Chromatography A* 1034(1–2): 237–42.
- Macdougall, Alistair J e Stephen G Ring. 2004. “Pectic Polysaccharides.” In *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides*,.
- Marques A., et al. 2010. “COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E DE MINERAIS DE CASCA E POLPA DE MANGA (*Mangifera Indica* L .).” *Revista brasileira*

de fruticultura 32: 1206–10.

- Mayumi, Jessica et al. 2016. “Effects of High Intensity Ultrasound and Emulsifiers on Crystallization Behavior of Coconut Oil and Palm Olein.” *Food Research International* 86: 54–63.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.05.009>.
- Mendes, Bruna de Andrade Braga. 2013. “Obtenção, Caracterização E Aplicação de Farinha Das Cascas de Abacaxi E de Manga.”
- Michalska, Anna, Aneta Wojdylo, Grzegorz Lysiak e Adam Figiel. 2017. “Effect of Different Drying Techniques on Physical Properties, Total Polyphenols and Antioxidant Capacity of Blackcurrant Pomace Powders.” *LWT - Food Science and Technology* 78: 114–21.
- Modesto, Joyce Helena et al. 2016. “Qualitative Attributes of Some Mango Cultivars Fruits.” *Australian Journal of Crop Science* 10(4): 565–70.
- Nagel, Andreas et al. 2014. “Improved Processes for the Conversion of Mango Peel into Storable Starting Material for the Recovery of Functional Co-Products.” *Industrial Crops and Products* 61: 92–105.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.034>.
- Nayak, B., R.H. Liu e J. Tang. 2015. “Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review.” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55(7).
- Negro, C, L Tommasi e A Miceli. 2003. “Phenolic Compounds and Antioxidant Activity from Red Grape Marc Extracts.” *Bioresource Technology* 87(1): 41–44. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085240200202X>.
- Neto, Carvalho, Moisés Félix, S Á Junior e Edigar De Mendes. 2015. “Cultivados Sem Agrotóxico , de Quintais Produtivos de Agricultores Familiares Do Semiárido Pernambucano . Determination of the Sleeve Shell Components (

-
- Mangifera Indica L.), Grown without Pesticides, Productive Backyards of Family Farmers in the Semiar.” *Cadernos de Agroecologia* 10.
- Nohynek, L, C Meier e M Ka. 2001. “Antimicrobial Properties of Phenolic Compounds from Berries.” 1500(Tietotie 2).
- Oliveira, Anderson do Nascimento. 2013. “PECTINAS DE CASCA DE MANGA (Mangífera Índica L.) Cv. UBÁ: OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ESPESSANTES E GELIFICANTES.”
- Ordóñez, Juan A. Pereda et al. 2007. *Tecnologia de Alimentos - Volume 1*. Porto Alegre: Artmed.
- Pandit, Saritha G., Pasupuleti Vijayanand e S. G. Kulkarni. 2015a. “Pectic Principles of Mango Peel from Mango Processing Waste as Influenced by Microwave Energy.” *LWT - Food Science and Technology* 64(2): 1010–14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.070>.
- Pandit, Saritha G., Pasupuleti Vijayanand e S.G. Kulkarni. 2015b. “Pectic Principles of Mango Peel from Mango Processing Waste as Influenced by Microwave Energy.” *LWT - Food Science and Technology* 64(2): 1010–14. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643815300116> (March 14, 2017).
- Parniakov, Oleksii et al. 2016. “Extraction Assisted by Pulsed Electric Energy as a Potential Tool for Green and Sustainable Recovery of Nutritionally Valuable Compounds from Mango Peels.” *Food Chemistry* 192: 842–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.096>.
- Patil, Dhiraj M. e Krishnacharya G. Akamanchi. 2017. “Ultrasound-Assisted Rapid Extraction and Kinetic Modelling of Influential Factors: Extraction of Camptothecin from Nothapodytes Nimmoniana Plant.” *Ultrasonics*

Sonochemistry 37: 582–91.

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417717300664> (March 13, 2017).

Pieczywek, Piotr M. et al. 2017. “Changes in Cell Wall Stiffness and Microstructure in Ultrasonically Treated Apple.” *Journal of Food Engineering* 197: 1–8.

Rabelo, Renata S., Mariana T.C. Machado, Julian Martínez e Miriam D. Hubinger. 2016. “Ultrasound Assisted Extraction and Nanofiltration of Phenolic Compounds from Artichoke Solid Wastes.” *Journal of Food Engineering* 178: 170–80. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877416300188> (March 13, 2017).

Rafiee, Zahra, Mohsen Barzegar, Mohammad Ali e Behnoush Maherani. 2017. “Nanoliposomal Carriers for Improvement the Bioavailability of High – Valued Phenolic Compounds of Pistachio Green Hull Extract.” *Food Chemistry* 220: 115–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.207>.

Ramos, Afonso, Paulo Henrique Sousa e Selene Benevides. 2004. “Tecnologia Da Industrialização Da Manga.” : 571–604.

Rehman, Z. U., A. M. Salariya, F. Habib e W. H. Shah. 2004. “Utilization of Mango Peels as a Source of Pectin.” 26(1): 73–76.

Ricce, Cinthia et al. 2016. “Ultrasound Pre-Treatment Enhances the Carrot Drying and Rehydration.” *Food Research International* 89: 701–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.030>.

Rodrigues, Eliseu, Lilian R B Mariutti e Adriana Z. Mercadante. 2013. “Carotenoids and Phenolic Compounds from *Solanum sessiliflorum*, an Unexploited Amazonian Fruit, and Their Scavenging Capacities against Reactive Oxygen and Nitrogen Species.” *Journal of Agricultural and Food*

Chemistry 61(12): 3022–29.

Rodriguez-amaya, Delia B. 2001. *A GUIDE TO ANALYSIS IN FOODS*. Campinas.

Rodriguez-Amaya, Delia B. e Mieko Kimura. 2004. *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*.

Rodriguez-Amaya, Delia B, Mieko Kimura e Jaime Amaya-Fardan. 2008. *Fontes Brasileiras de Carotenóides*.

Sai-ut, Samart, Soottawat Benjakul, Supaluck Kraithong e Saroat Rawdkuen. 2015. “LWT - Food Science and Technology Optimization of Antioxidants and Tyrosinase Inhibitory Activity in Mango Peels Using Response Surface Methodology.” *LWT - Food Science and Technology* 64(2): 742–49.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.003>.

Sant’Anna, Voltaire, Poliana Deyse Gurak, Ligia Damasceno Ferreira Marczak e Isabel Cristina Tessaro. 2013. “Tracking Bioactive Compounds with Colour Changes in Foods - A Review.” *Dyes and Pigments* 98(3): 601–8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011>.

Schieber, Andreas et al. 2003. “A New Process for the Combined Recovery of Pectin and Phenolic Compounds from Apple Pomace.” *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 4(1): 99–107.

Shirsath, S R, S H Sonawane e P R Gogate. 2012. “Intensification of Extraction of Natural Products Using Ultrasonic Irradiations — A Review of Current Status.” *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification* 53: 10–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2012.01.003>.

Singleton, V L, Joseph A Rossi e J Jr. 1965. “COLORIMETRY OF TOTAL PHENOLICS WITH A C I D REAGENTS.” *Journal of Enology* 16(3): 144–58.

-
- Sogi, Dalbir Singh, Muhammad Siddiq e Kirk D. Dolan. 2015. 62 LWT - Food Science and Technology *Total Phenolics, Carotenoids and Antioxidant Properties of Tommy Atkin Mango Cubes as Affected by Drying Techniques*.
- Sogi, Dalbir Singh, Muhammad Siddiq, Ibrahim Greiby e Kirk D. Dolan. 2013. “Total Phenolics, Antioxidant Activity, and Functional Properties of ‘Tommy Atkins’ Mango Peel and Kernel as Affected by Drying Methods.” *Food Chemistry* 141(3): 2649–55.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.053>.
- Sonics. 2016. “VC 505 / VC 750 | Sonics & Materials, Inc.”
<https://www.sonics.com/liquid-processing/products/vibra-cell-processors/vc-505-vc-750/> (December 31, 2016).
- Sun, Yujing et al. 2011. “Effects of Different Factors of Ultrasound Treatment on the Extraction Yield of the All-Trans-??-Carotene from Citrus Peels.” *Ultrasonics Sonochemistry* 18(1): 243–49.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.05.014>.
- Tiwari, Brijesh K. 2015. “Ultrasound : A Clean , Green Extraction Technology.” *Trends in Analytical Chemistry* 71: 100–109.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>.
- Tobergte, David R., and Shirley Curtis. 2013. “O Produtor Pergunta, a Embrapa Responde.” *Journal of Chemical Information and Modeling* 53(9): 1689–99.
- Wang, Jun et al. 2017. “Effects of Various Blanching Methods on Weight Loss, Enzymes Inactivation, Phytochemical Contents, Antioxidant Capacity, Ultrastructure and Drying Kinetics of Red Bell Pepper (*Capsicum Annuum* L.)” *LWT - Food Science and Technology* 77: 337–47.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643816307484>.
- Wang, Miaomiao et al. 2016. “Characterization and Functional Properties of

Mango Peel Pectin Extracted by Ultrasound Assisted Citric Acid.”

International Journal of Biological Macromolecules.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.011>.

Wang, Wenjun et al. 2015. “Ultrasound-Assisted Heating Extraction of Pectin from Grapefruit Peel: Optimization and Comparison with the Conventional Method.” *Food Chemistry* 178: 106–14.

Wu, Hao, Junxiang Zhu, Wenchao Diao e Chengrong Wang. 2014. “Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction and Antioxidant Activity of Polysaccharides from Pumpkin (*Cucurbita Moschata*).” *Carbohydrate Polymers* 113: 314–24. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861714007024> (July 25, 2017).