

Semente de uvaia (*Eugenia pyriformis*) como nova fonte de obtenção para compostos bioativos: estudo do processo de extração

Palavras-Chave: Compostos fenólicos; antioxidantes; fluidos pressurizados.

Autores/as:

Rafael Augusto Juliato [FEA/UNICAMP]

MSc Isadora de Souza Lopes [FEA/UNICAMP]

Prof. Dr. Luiz Henrique Fasolin [FEA/UNICAMP]

Prof.^a Dr.^a Carolina Franco Siqueira Picone [FEA/UNICAMP]

INTRODUÇÃO:

A uvaia (*Eugenia pyriformis*) é uma fruta nativa da mata atlântica ainda pouco explorada economicamente apesar de seu potencial bioativo. Além disso, mesmo quando explorada através de produtos artesanais, como sucos, geleias e doces, sua semente é descartada, sendo considerada um resíduo (JACOMINO et al., 2018). Estudos apontam que, tanto as partes comestíveis, quanto as sementes da uvaia, apresentam composição química rica em compostos bioativos, tais como o ácido ascórbico e a quercetina, que possuem reconhecida atividade antioxidante ((DA SILVA et al., 2022);(FARIAS et al., 2020);(RODRIGUES et al., 2021)). A presença de tais compostos, tanto na polpa quanto nas sementes da uvaia, confere a esta fruta grande potencial de exploração para as indústrias de alimentos, cosméticos e fármacos. Os métodos convencionais de extração, muitas vezes, necessitam de altas temperaturas, alto tempo processual e um gasto elevado de solventes. Todos esses aspectos contribuem para a degradação dos compostos de interesse, além de inviabilizarem economicamente sua obtenção. Neste sentido, destacam-se os métodos alternativos de extração, como a extração por líquido pressurizado (PLE). Nesta técnica há maior maleabilidade de processo, em que as variáveis de temperatura, pressão, solvente e tempo podem ser manipuladas, garantindo uma extração mais eficiente para cada caso. Além disso, solventes tóxicos não se fazem necessários, podendo-se obter uma extração altamente eficiente com o emprego de solventes *eco-friendly*, como a água e o etanol (MACHADO et al., 2015). Mesmo assim, a extração de compostos bioativos a partir da semente de uvaia por líquidos pressurizados não é relatada na literatura, apesar de seu potencial de aplicação. Este projeto tem como objetivo a obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos com intensa atividade antioxidante a partir das sementes de uvaia, de forma a agregar valor ao resíduo e intensificar a viabilidade econômica e exploração sustentável da fruta. Para isso, será buscada a otimização das condições de temperatura e porcentagem de co-solvente aplicadas à técnica de extração por fluidos pressurizados.

METODOLOGIA:

A uvaia foi adquirida do Sítio do Belo, localizado em Paraibuna (São Paulo, Brasil) e posteriormente sanitizados em solução de hipoclorito de sódio (200 ppm) no Laboratório de Microestruturas de Alimentos (LMA), da Faculdade de Engenharia de alimentos (FEA – UNICAMP). Após a sanitização em hipoclorito de sódio (200 ppm), as sementes foram separadas da polpa e então lavadas com água destilada para a remoção de sujidades. Em seguida, as sementes foram secas em estufa (35 °C/24 horas) e trituradas para obtenção do farelo. Uma alíquota desse farelo foi separada para avaliação do teor de umidade total. O restante da amostra foi liofilizado. A composição centesimal da semente (teor de cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos) foi

avaliada conforme as metodologias descritas pela *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC, 2006). Após a caracterização centesimal, a amostra liofilizada foi moída em moinho de facas (MA340, Marconi, São Paulo, Brasil), para padronização do tamanho das partículas. A distribuição de tamanho de partículas foi avaliada a partir da metodologia proposta por ANSI/ASABE (2007), adicionando 50,0 g da amostra padronizada em um jogo de peneiras (Agitador de peneiras magnético, Bertel, São Paulo, Brasil) com peneiras de 2 mm, 1,41 mm, 1,0 mm, 0,71 mm, 0,30 mm e 0,18 mm (nível 5 de agitação/15 minutos), obtendo-se um diâmetro médio de 0,24 mm. A cinética de extração (100 °C, 10 Mpa e 75,0 % (v/v) de etanol) foi realizada para definição do tempo de extração a partir da avaliação dos teores acumulados de fenólicos e flavonoides. Para isso, alíquotas do extrato foram recolhidas em tempos pré-determinados e os teores de fenólicos e flavonoides avaliados em um espectrofotômetro UV-vis (800 XI, Femton, São Paulo, Brazil), conforme proposto por Machado *et al.* (2015) e Veggi *et al.* (2014), respectivamente. Além disso, também foi avaliado o rendimento da extração a partir de uma alíquota de 2 ml de cada um dos extratos, a qual foi levada ao rotaevaporador (MA120, Marconi, São Paulo, Brasil), (45 °C) para remoção do etanol. A determinação da melhor condição de extração foi avaliada através de um planejamento 2² composto central rotacional (DCCR), com dois níveis de temperatura (40 e 100 °C) e porcentagem de etanol (50,0 e 99,5%), totalizando 11 extratos, conforme mostrado na Tabela 2. Os extratos foram avaliados de acordo com teores de fenólicos totais e flavonoides. Além disso, a atividade antioxidante dos extratos foi analisada de acordo com as análises de poder redutor férrico (FRAP) e eliminação de radicais (ABTS), de acordo com as metodologias propostas por Zimila *et al.* (2020) e Rufino *et al.* (2007). Os resultados foram tratados e analisados através do software online Protimiza Experimental Design (PROTIMIZA, 2014), considerando grau de significância de 5%.



Figura 1 - Sementes de uvaia sanitizadas – fonte: autor, 2021.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A Tabela 1 apresenta a composição centesimal das sementes de uvaia. Os valores calculados em base seca estão de acordo com os resultados obtidos por FARIAS *et al.*, 2020. Pequenas diferenças nos teores encontrados podem estar relacionadas à variedade do fruto, ao local de cultivo e à época da colheita (JACOMINO *et al.*, 2018). Além disso, foram encontrados altos teores de umidade e carboidratos totais, aliado a baixas quantidades de lipídios. Essa constatação é semelhante aos resultados obtidos por (DE ARAÚJO *et al.*, 2021) para sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata*), fruta do mesmo gênero da uvaia.

Tabela 1 - Caracterização centesimal das sementes de uvaia (g/100g) de peso seco.

Umidade (% m/m)	59,62 ± 1,09
Cinzas (% m/m)	1,57 ± 0,31
Lipídios (% m/m)	1,79 ± 0,41
Proteínas (% m/m)	9,53 ± 0,49
Carboidratos totais (% m/m)	87,11 ± 2,30

A Figura 2 representa o gráfico de rendimento obtido para a cinética de extração. Ao analisar o gráfico é possível perceber que os 30 primeiros minutos de extração, representam 79,88% do rendimento total obtido ao longo dos 90 minutos.

Além disso, os teores acumulados de fenólicos e de flavonoides neste intervalo representam 77,83% e 81,39% de seus respectivos teores totais obtidos ao longo dos 90 minutos. Portanto, foi adotado o tempo de extração de 30 minutos.

Após a definição do tempo de extração, os extratos foram obtidos através do DCCR conforme apresentado na Tabela 2, que exhibe as diferentes condições de extração, bem como o teor de fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante para cada extrato. O teor de fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante apresentaram correlação positiva, de modo que extratos com maior teor de fenólicos totais foram os

mesmos a apresentarem os maiores teores de flavonoides e as maiores atividades antioxidante. Além disso, as análises de atividade antioxidante FRAP e ABTS também apresentaram correlação positiva. Esse comportamento é semelhante ao obtido por Rodrigues *et al.* (2021) que, avaliando diferentes condições de extração por ultrassom aplicadas à uvaia, constataram que, quanto maiores os teores de fenólicos totais e flavonoides dos extratos, maior é sua respectiva atividade antioxidante para ambas as análises FRAP e ABTS. Os compostos fenólicos possuem intensa capacidade antioxidante inclusive quando comparados à carotenoides e às vitaminas E e C (FERNANDEZ-PANCHON *et al.*, 2008). Isso ocorre devido à alta capacidade que tais compostos possuem de doar átomos de hidrogênio ou elétrons, aliada à habilidade de deslocamento do elétron desemparelhado dentro da estrutura aromática. De acordo com Monagas *et al.* (2005), os compostos fenólicos representam um grupo de milhares de moléculas com estruturas diferentes, e mesmo que sua capacidade antioxidante possa variar de acordo com o número e o arranjo dos grupos funcionais hidroxilas, a grande maioria dessas moléculas apresenta alguma capacidade de combate aos radicais livres (SANG *et al.*, 2002).

Os resultados das análises foram plotados no software Protimiza, donde foram obtidos coeficientes de determinação (R^2) de 97,45%; 95,12%; 97,21% e 77,68% para as análises de fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante FRAP e ABTS, respectivamente. Conforme pode-se observar na Tabela 2, o extrato obtido a 91,28 °C e 57,19% (v/v) de etanol apresentaram os maiores valores de fenólicos totais, flavonoides e de atividade antioxidante, em contrapartida, o extrato obtido nas condições de 48,72 °C e 92,30 % (v/v) etanol apresentou os menores valores para todas as mesmas análises. Esse resultado é compatível com os planos gerados pelo software (Figura 3), que indicam o aumento do conteúdo de fenólicos totais, flavonoide e atividade antioxidante conforme o aumento da temperatura, ao passo que, o comportamento é inverso para o aumento da concentração de etanol como co-solvente. De acordo com Allothman; Bhat; Karim (2009), solventes de polaridade média normalmente apresentam maior capacidade de solubilização dos compostos fenólicos. Além disso, as altas temperaturas estão diretamente relacionadas ao aumento da extração de compostos fenólicos pois afetam positivamente a capacidade de solubilização do solvente e as taxas de transferência de massa (MAHINDRAKAR; RATHOD, 2020). Como pode-se visualizar na Figura 3, a faixa ótima para obtenção de compostos fenólicos a partir da semente de uvaia por PLE é dada entre 80 e 100°C. Apesar de temperaturas elevadas poderem ocasionar na degradação dos compostos bioativos, a degradação depende do binômio temperatura-tempo (SOUZA, 2013). Nesse sentido, a utilização de altas temperaturas aliadas ao baixo tempo de extração utilizado corroboraram para que o solvente atingisse boa capacidade de solubilização dos compostos de interesse, sem que houvesse a degradação indesejada dos mesmos.

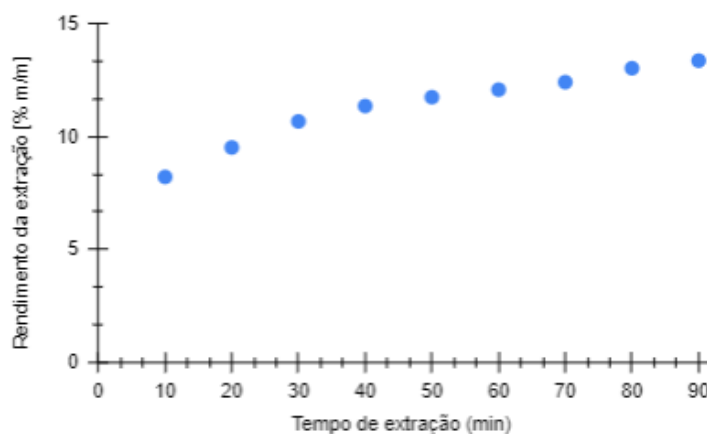


Figura 2 - Gráfico do rendimento de extração obtido através da cinética de extração.

Ponto	Temperatura	% Etanol	Temperatura (°C)	% Etanol (v/v)	Fenólicos totais	Flavonoides	FRAP	ABTS
1	-1	-1	48,72	57,19	21,20	8,54	223,70	195,61
2	1	-1	91,28	57,19	42,55	17,75	370,05	443,05
3	-1	1	48,72	92,3	3,87	1,53	40,45	49,36
4	1	1	91,28	92,3	23,77	8,24	196,24	131,67
5	-1,41	0	40	74,75	14,51	4,73	115,64	105,76
6	1,41	0	100	74,75	42,41	15,23	339,55	253,35
7	0	-1,41	70	50	38,22	12,81	294,53	206,27
8	0	1,41	70	99,5	13,57	4,80	109,26	89,73
9	0	0	70	74,75	33,82	11,21	240,05	163,31
10	0	0	70	74,75	33,28	10,10	222,70	168,45
11	0	0	70	74,75	31,53	10,09	213,47	174,99

Tabela 2 – Diferentes condições de temperatura e porcentagem de cossolvente combinadas para obtenção dos extratos por PLE e resultados obtidos durante as caracterizações. O teor de fenólicos, flavonoides, ABTS e FRAP estão expressos respectivamente em mg equivalente de ácido gálico/g semente de uvaia (mg EAG/g semente de uvaia), mg equivalente de catequina/g semente de uvaia (mg ECA/g semente de uvaia) e milimolar de trolox/g semente de uvaia (mM Trolox/g semente de uvaia).

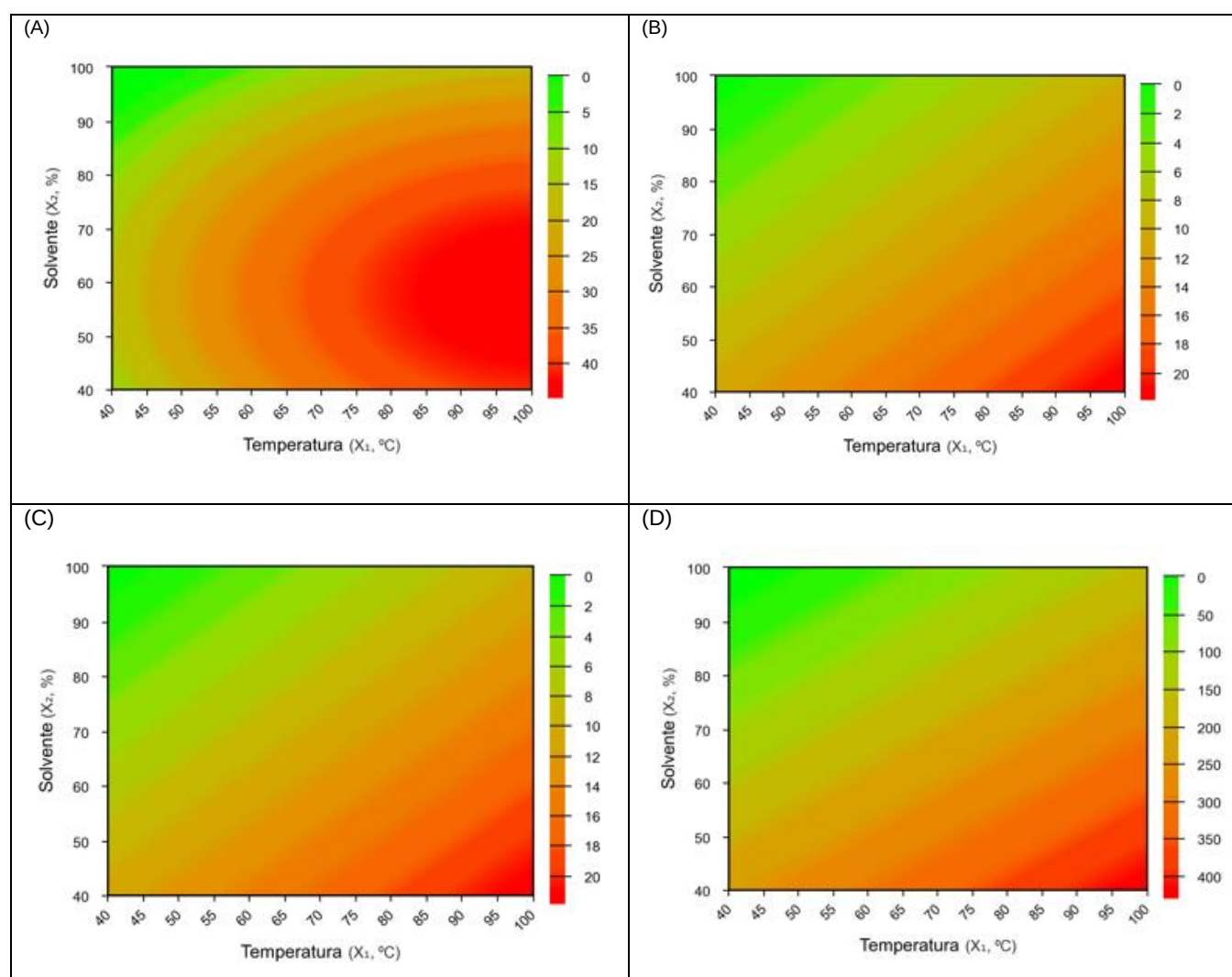


Figura 3 - Planos gerados através do DCCR para (A) fenólicos, (B) flavonoides, (C) atividade antioxidante FRAP e (D) atividade antioxidante ABTS.

CONCLUSÕES:

A partir do estudo de otimização da técnica PLE em diferentes condições de temperatura e solvente, utilizando o DCCR, foi possível a obtenção de extratos com rica funcionalidade antioxidante a partir da semente da uvaia, tradicionalmente considerada um resíduo do processamento do fruto. O tempo de extração de 30 minutos é relativamente baixo, e resultou em uma boa eficiência de extração em relação ao gasto de solventes. Os valores encontrados durante as determinações sugerem que a melhor condição para extração dos compostos com atividade antioxidante se encontra entre as temperaturas de 90 a 100 °C e concentrações de solvente em torno de 50 % de etanol. Por fim, os resultados obtidos possibilitam a exploração responsável e sustentável do fruto, através de um processo *eco-friendly* que não utiliza solventes tóxicos, agregando valor ao resíduo.

BIBLIOGRAFIA

- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 785–788, 2009.
- ANSI/ASABE. ANSI/ASAE S424.1 Method of determining and expressing particle size of chopped forage materials by screening. ASAE Standard, v. 1992, p. 663–665, 2007
- AOAC (2006). **Official method of analysis of AOAC international** (18th ed). Gaithersburg.
- DA SILVA, A. P. G. et al. Chemical composition, bioactive compounds, and perspectives for the industrial formulation of health products from uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess – Myrtaceae): A comprehensive review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 109, n. October 2021, p. 104500, 2022.
- DE ARAÚJO, F. F. et al. Chemical characterization of *Eugenia stipitata*: A native fruit from the Amazon rich in nutrients and source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 139, n. November 2020, 2021.
- FARIAS, D. DE P. et al. Distribution of nutrients and functional potential in fractions of *Eugenia pyriformis*: An underutilized native Brazilian fruit. **Food Research International**, v. 137, n. July, p. 109522, 2020.
- FERNANDEZ-PANCHON, M. S. et al. Antioxidant activity of phenolic compounds: From in vitro results to in vivo evidence. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 7, p. 649–671, 2008.
- JACOMINO, A. P. et al. Uvaia— *Eugenia pyriformis* Cambess. **Exotic Fruits**, p. 435–438, 2018.
- MACHADO, A. P. D. F. et al. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. **Food Research International**, v. 77, p. 675–683, 2015.
- MAHINDRAKAR, K. V.; RATHOD, V. K. Ultrasonic assisted aqueous extraction of catechin and gallic acid from *Syzygium cumini* seed kernel and evaluation of total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 149, n. December 2019, p. 107841, 2020.
- Monagas, M., Bartolomé, B., and Gómez-Cordovés, C. (2005). Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 45:85–118.
- PROTIMIZA. Protimiza experimental design. Campinas: PROTIMIZA, 2014. Versão 1. Disponível em: . Acesso em: 05 jun. 2016.
- RODRIGUES, L. M. et al. Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) residue as a source of antioxidants: An approach to ecofriendly extraction. **Lwt**, v. 138, n. December 2020, 2021.
- RUFINO, M. DO S. et al. ISSN 1679-6535 julho, 2007 Fortaleza, CE. p. 0–3, 2007.
- Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W. S., Lachance, P. A., Ho, C. T., and Rosen, R. T. J. (2002). Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus* Batsch). *J. Agric. Food Chem.*, 50:2459–2463.
- SGANZERLA, W. G. et al. Variability in the molecular, phenological, and physicochemical characteristics of uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess - Myrtaceae) accessions from the Brazilian Atlantic rainforest. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, n. May, 2021.
- SOUZA, A. C. P. Extração de compostos fenólicos de subprodutos do processamento de sementes de girassol. p. 1–41, 2013.
- VEGGI, P. C.; CAVALCANTI, R. N.; MEIRELES, M. A. A. Production of phenolic-rich extracts from Brazilian plants using supercritical and subcritical fluid extraction: Experimental data and economic evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 96–109, 2014.
- ZIMILA, H. E. et al. Phytochemical analysis and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of hydroalcoholic extracts of the leaves of *Salacia kraussii*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 30, n. November, p. 101862, 2020.