

Otimização da extração de compostos antioxidantes da guapeva (*Pouteria gardneriana radlk*) através da análise de superfície de resposta

Optimization of the extraction of antioxidant compounds from guapeva (*Pouteria gardneriana radlk*) through response surface analysis

Optimización de la extracción de compuestos antioxidantes de guapeva (*Pouteria gardneriana radlk*) a través del análisis de superficie de respuesta

Recebido: 26/04/2020 | Revisado: 01/05/2020 | Aceito: 06/05/2020 | Publicado: 14/05/2020

Viviane Ferreira dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3393-5016>

Universidade Federal do Tocantins, Brasil

E-mail: vivianefsnutri@gmail.com

Caroline Roberta Freitas Pires

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1427-7276>

Universidade Federal do Tocantins, Brasil

E-mail: carolinerfpres@mail.uft.edu.br

Rodolfo Castilho Clemente

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0766-9968>

Universidade Federal do Tocantins, Brasil

E-mail: castilho@mail.uft.edu.br

Resumo

A vasta reserva natural do bioma do cerrado apresenta espécies frutíferas exóticas e pouco conhecidas, como a guapeva (*Pouteria gardneriana Radlk*), de grande valor biológico e nutritivo. Objetivo do trabalho foi otimizar o processo de extração de compostos antioxidantes da guapeva, com variadas concentrações de ácido clorídrico em diferentes tempos de contato, utilizando o método de análise por superfície de resposta (ASR). Para a extração dos compostos antioxidantes, foi adotado um delineamento composto central rotacional (DCCR) com a utilização dos solventes acetona/metanol, e diferentes concentrações de HCl (0,2 mol/l, 0,3 mol/l, 0,4 mol/l, 0,5 mol/l e 0,6 mol/l) e distintos tempos de contato em minutos (15, 30, 60, 90 e 105) utilizando 4 pontos centrais. A atividade

antioxidante total DPPH, foi avaliada pelo método de DPPH de acordo com Rufino et al., (2009) e a determinação de fenólicos totais segundo Waterhouse (2002). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm. Utilizou-se o software STATISTICA 8.0. para a determinação de análise de variância, Análise de Regressão e Superfície de Resposta. Com a ASR constatou-se, que a faixa ótima de trabalho para otimização de extração de compostos antioxidantes na polpa da guapeva foi a concentração de HCl de 0,50 mol/L, não sendo relevante a variável tempo de contato. Na casca, a faixa ótima ficou acima de 0,50 mol/L de HCL, com tempo de contato inferior a 30 minutos. Já para os compostos fenólicos totais de ambas as partes do fruto, obtiveram faixa ótima de 0,40 mol/L de HCL em 60 minutos de contato. O experimento mostrou ser um importante método para otimizar e construir modelos preditivos, com acidificação por HCl variando o tempo de contato.

Palavras-chave: Frutos do cerrado; Compostos bioativos; Superfície de resposta.

Abstract

The vast natural reserve of the cerrado biome features exotic and little-known fruit species, such as guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), of great biological and nutritional value. Objective of the work was to optimize the extraction process of guapeva antioxidant compounds, with varying concentrations of hydrochloric acid at different contact times, using the response surface analysis (ASR) method. For the extraction of antioxidant compounds, a central rotational compound design (DCCR) was adopted with the use of acetone / methanol solvents, and different concentrations of HCl (0.2 mol / l, 0.3 mol / l, 0.4 mol / l 0.5 mol / l and 0.6 mol / l) and different contact times in minutes (15, 30, 60, 90 and 105) using 4 central points. The DPPH total antioxidant activity was evaluated by the DPPH method according to Rufino et al., (2009) and the determination of total phenolics according to Waterhouse (2002). The readings were performed on a spectrophotometer at 515 nm. The STATISTICA 8.0 software was used. for the determination of analysis of variance, Regression Analysis and Response Surface. With the ASR, it was found that the optimum working range for optimizing the extraction of antioxidant compounds in the guapeva pulp was the HCl concentration of 0.50 mol / L, with the contact time variable not relevant. In the peel, the optimum range was above 0.50 mol / L of HCL, with a contact time of less than 30 minutes. For the total phenolic compounds of both parts of the fruit, they obtained an optimum range of 0.40 mol / L of HCL in 60 minutes of contact. The experiment proved to be an important method to optimize and build predictive models, with acidification by HCl varying the contact time.

Keywords: Fruits of the cerrado; Bioactive compounds; Response surface

Resumen

La gran reserva natural del bioma cerrado presenta especies frutales exóticas y poco conocidas, como la guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), de gran valor biológico y nutricional. El objetivo del trabajo fue optimizar el proceso de extracción de compuestos antioxidantes de la guapeva, con concentraciones variables de ácido clorhídrico en diferentes tiempos de contacto, utilizando el método de análisis de superficie de respuesta (ASR). Para la extracción de compuestos antioxidantes, se adoptó un diseño de compuesto rotacional central (DCCR) con el uso de solventes de acetona / metanol y diferentes concentraciones de HCl (0.2 mol / l, 0.3 mol / l, 0.4 mol / l 0.5 mol / ly 0.6 mol / l) y diferentes tiempos de contacto en minutos (15, 30, 60, 90 y 105) utilizando 4 puntos centrales. La actividad antioxidante total de DPPH se evaluó mediante el método DPPH de acuerdo con Rufino et al. (2009) y la determinación de fenólicos totales de acuerdo con Waterhouse (2002). Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro a 515 nm. Se utilizó el software STATISTICA 8.0. para la determinación del análisis de varianza, análisis de regresión y superficie de respuesta. Con el ASR, se encontró que el rango de trabajo óptimo para optimizar la extracción de compuestos antioxidantes en la pulpa de guapeva era la concentración de HCl de 0.50 mol / L, con la variable de tiempo de contacto no relevante. En la exfoliación, el rango óptimo fue superior a 0,50 mol / L de HCL, con un tiempo de contacto de menos de 30 minutos. Para los compuestos fenólicos totales de ambas partes de la fruta, obtuvieron un rango óptimo de 0,40 mol / L de HCL en 60 minutos de contacto. El experimento demostró ser un método importante para optimizar y construir modelos predictivos, con acidificación por HCl variando el tiempo de contacto.

Palabras clave: Frutos cerrados; Compuestos Bioactivos; Superficie de respuesta.

1. Introdução

O bioma do cerrado enquadra-se entre uma das mais ricas savanas do mundo, detentor de um imensurável patrimônio de recursos naturais, ocupa aproximadamente, 2 milhões de km², correspondendo a 23,1% do território brasileiro (Brasil, 2009). Da sua vasta reserva natural, destacam-se as espécies frutíferas exóticas de características sensoriais peculiares e intensas (Rocha et al., 2011, Morzelle et al., 2015).

O consumo das frutas do cerrado aumentou nas últimas décadas, e essa crescente procura, deu-se principalmente em razão das suas propriedades funcionais, em especial os compostos bioativos, que desempenham um papel fundamental para a manutenção da saúde contra os radicais livres produzidos pelo organismo (Silva et al., 2008, Siqueira et al., 2017).

Mas apesar da grande difusão dos frutos e do crescente interesse científico, econômico e social que o cerca, existe ainda uma grande variedade de frutos desconhecidos e pouco estudados, e neste contexto, destaca-se a guapeva (Siqueira et al., 2017).

A guapeva é uma fruta de baga ovóide, de coloração amarelo alaranjada, medindo de 3 cm a 8 cm de diâmetro, de polpa esbranquiçada, apresenta em toda parte externa da casca uma forragem de finos pelos, conhecida popularmente por abiurana-curriola, abiu-do-mato, abiu-do-cerrado, bacupari (Brasil, 2015).

A composição centesimal da polpa da fruta apresenta valores de 78% de umidade, 0,5% de cinzas, 1,8 % de proteína, 7% de lipídios e 12,2% de carboidratos, capacidade antioxidante de 399,31 μ mol / Trolox eq e fenólicos totais com valores médios de 79,00GAE/100g (Siqueira et al., 2017).

Do ponto de vista nutricional a guapeva mostrou ser um fruto de importância biológica para a saúde humana, apresentando valores de compostos bioativos maiores que outras frutas de comercialização popular (Alves, 2013).

Os compostos bioativos são moléculas de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, substâncias hidrossolúveis ou enzimas e derivam principalmente da dieta (Leite & Sarni, 2003). Os principais antioxidantes são as vitaminas C e E, os carotenóides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonóides, encontrados majoritariamente nos vegetais (Silva et al., 2010). Os compostos bioativos, mesmo presentes em baixas concentrações, retardam ou previnem o estresse oxidativo, que é um processo metabólico que aumenta a perda de funções fisiológicas, doenças, e inclusive, a morte (Laguerre et al., 2007).

O processo de determinação de antioxidantes, na sua integralidade torna-se complexo e dispendioso, pois envolve diversos fatores e variáveis que interferem na qualidade e eficiência da extração.

O método de análise por superfície de resposta (ASR) permite investigar a influência de determinadas variáveis em um processo, e a forma de interação entre estas variáveis, bem como obter o valor das variáveis que maximizem os resultados esperados. Em síntese, a ASR desenvolve, melhora e otimiza processos (Santos et al., 2008).

Sabendo da importância dos compostos antioxidante e que diversos fatores interferem na extração dos mesmos, este trabalho teve este trabalho teve por finalidade otimizar o processo de extração de compostos antioxidantes da guapeva, utilizando-se os solventes acetona/metanol, com variadas concentrações de ácido clorídrico em diferentes tempo de contato, utilizando o método de análise por superfície de resposta (ASR).

2. Metodologia

2.1- Amostras

Uma pesquisa tem a finalidade de buscar novos saberes como preconiza Pereira et al. (2018). Quando a pesquisa é em campo as variáveis são de difícil controle em relação às pesquisas laboratoriais.

Nesta pesquisa, os frutos foram coletados no mês de Setembro de 2019 em uma área de pastagem nativa com formação típica do cerrado. Foram selecionados frutos com a mesma coloração (maduros) e com a ausência de injúrias que foram direcionadas ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins (UFT).

Posteriormente foram lavados e sanitizados em uma solução de hipoclorito na concentração de 100ppm por 10 minutos. Após higienizados os frutos foram despulpados manualmente e a polpa e casca do fruto foram triturados separadamente e congelados a -18° C.

Para a realização das análises dos compostos antioxidantes e fenólicos totais, as amostras foram descongeladas previamente de forma convencional em geladeira. Em sequência pesou-se 1,0 grama da polpa e 1,0 grama da casca da guapeva em balança analítica, acondicionando-as em tubo de ensaio.

2.2 – Preparo das amostras

Os compostos antioxidantes foram extraídos com os solventes acetona/metanol em concentrações de 70% e 50% respectivamente, avaliando diferentes concentrações de HCl (0,2 mol/l, 0,3 mol/l, 0,4 mol/l, 0,5 mol/l e 0,6 mol/l) e tempo de contato em minutos (15, 30, 60, 90 e 105 minutos). As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas durante 15 minutos na velocidade 5.000 rpm.

2.3 – Determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH

Para a determinação da atividade antioxidante total pelo método de DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), foram pesados 1 g das amostras, conforme delineamento na tabela 02. Adicionou-se 0,1 mL do extrato da amostra a 3,9 mL de solução de DPPH, segundo

metodologia proposta por Rufino et al. (2009). Calculando-se o percentual de sequestro do radical DPPH a partir do padrão.

As leituras foram realizadas após 120 minutos, em espectrofotômetro a 515 nm, sendo os resultados obtidos a partir da equação a seguir:

$$\%SRL = (Ac - Am) \times 100 / Ac$$

Em que;

Ac = absorvância do controle

Am = absorvância da amostra

2.4 – Método para determinação de compostos fenólicos totais

A determinação de compostos fenólicos totais foi conduzida conforme procedimento descrito por Waterhouse (2002).

Para a condução do experimento uma alíquota de 0,5 mL de extrato de cada amostra foi adicionada aos tubos contendo 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10%. Em seguida foi adicionado 2 mL de solução de carbonato de sódio 4%. Os tubos contendo a solução foram homogeneizados e mantidos à temperatura ambiente, com luminosidade baixa controlada, ficando em repouso por 120 minutos. A absorvância a 750 nm foi determinada em espectrofotômetro. O cálculo do teor de fenólicos foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente por 100 g de peso fresco (mg EAG.100g-1).

2.5 - Delineamento estatístico

Um delineamento estatístico de Composição Central Rotacional (DCCR) com pontos axiais foi escolhido para investigar a linearidade ou não dos efeitos dos fatores, concentração do ácido clorídrico e tempo de contato, na eficiência da extração de compostos antioxidante e compostos fenólicos totais conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1- Fatores e níveis testados para o Delineamento de Composição Central com pontos axiais.

Fatores	Ponto axial inferior (-1,41)	Nível inferior (-1)	Nível Intermediário (0)	Nível Superior (+1)	Ponto axial superior (+1,41)
Concentração de HCl (mol/L)	0,26	0,3	0,4	0,5	0,54
Tempo de contato (min)	17,6	30	60	90	102,4

Fonte: autores.

Com o objetivo de verificar a influência das variáveis: concentração de ácido clorídrico e tempo de contato na otimização de extração de compostos antioxidantes e fenólicos totais em amostras de guapeva, foi elaborado um planejamento experimental fatorial, com quatro repetições no ponto central, sendo estes a estimativa do erro experimental, 2 pontos nos cantos do quadrado, representando a amplitude do experimento e 2 pontos em uma distância codificada de $\pm 1,41$ ($\pm\alpha$) do centro do delineamento e medindo a possibilidade de não linearidade nos valores obtidos de sequestro de radicais livres e fenólicos totais em função dos fatores. Desse modo, considerando dois fatores e quatro replicatas do ponto central, o planejamento envolveu 12 experimentos.

2.6 – Planejamento experimental fatorial e análise de superfície de resposta

Conhecendo-se as concentrações de fenólicos totais e o sequestro de radicais livres, a expressão do modelo matemático de superfície de resposta foi obtida aplicando-se regressões lineares múltiplas em função dos fatores experimentais, conforme descrito na equação abaixo:

$$\text{Equação 1: } Y = b_0 + b_1X + b_2Z + b_{11}X^2 + b_{22}Z^2 + b_{12}XZ$$

Na equação 1, a resposta (Y) foram as concentrações, obtidas para %SRL e valores de compostos fenólicos totais por peso da amostra de guapeva. Os valores de b são as estimativas dos coeficientes polinômios, os valores X e Z representam os fatores concentração de HCl e tempo de contato, respectivamente. Os termos lineares, b_1X e b_2Z , são responsáveis pelos efeitos principais, os termos quadráticos, $b_{11}X^2$ e $b_{22}Z^2$, responsáveis pelos efeitos da curvatura, e $b_{12}XZ$, é responsável pelos efeitos das interações.

Para análise dos resultados, utilizou-se o software STATISTICA 8.0, para realização do teste estatístico de F com aplicação da Análise de Variância para determinar a significância entre as amostras (Ferreira, 2000).

3. Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta as concentrações de fenólicos totais em mg EAG.100g⁻¹, e a porcentagem de sequestro de radicais livres obtidos a partir do método de DPPH, obtidos em diferentes condições do DCCR.

Tabela 2 - Condições experimentais do delineamento estatístico de Composição Central (DCC) com pontos axiais (fatores com valores codificados).

Experimento (Sequência teórica)	Fatores (valores codificados) Concentração de HCl	Tempo de Contato (min)	Parte do fruto			
			Polpa		Casca	
			% de Sequestro de Radicais Livres (DPPH)	Fenólicos Totais (mg EAG.g ⁻¹)	% de Sequestro de Radicais Livres (DPPH)	Fenólicos Totais (mg EAG.g ⁻¹)
1	-1	-1	92,98	164,57	94,76	75,25
2	-1	+1	93,02	178,03	95,02	77,58
3	+1	-1	95,36	141,28	96,09	61,39
4	+1	+1	95,47	145,72	95,50	58,12
5	-1,41	0	91,03	124,12	93,60	65,83
6	+1,41	0	95,35	107,54	95,97	50,72
7	0	-1,41	96,35	179,02	96,09	69,67
8	0	+1,41	95,73	189,67	95,26	101,23
9	0	0	95,37	193,87	95,38	137,02
10	0	0	95,36	192,87	95,50	138,31
11	0	0	95,38	193,62	95,50	139,12
12	0	0	95,35	191,79	95,50	137,23

Fonte: autores.

As primeiras 4 linhas da Tabela 2 são suficientes para a determinação do modelo linear para extração, da linha 5 até a linha 8 do planejamento estão os pontos axiais e as 4 replicatas do experimento, que correspondem ao ponto central, estão da linha 9 até a linha 12.

De acordo com a estimativa para % SRL na polpa da guapeva, observa-se na Tabela 3 que foi significativa ($p < 0,05$) apenas a concentração de ácido sendo que tempo de contato não

foi significativo ($b_2= 0,68$ e $b_{22}= 0,52$) da mesma forma não obteve-se significância para a interação dos fatores de concentração de ácido e tempo de contato ($b_{12}= 0,96$).

O mesmo resultado foi obtido para a determinação de fenólicos totais da polpa do fruto, sendo significativa apenas a concentração de ácido, não sendo relevante para a extração o tempo de contato e a interação entre os fatores (Tabela 3).

Tabela 3 - Estimativas dos coeficientes da regressão do modelo polinomial quadrático, erro puro e significância (p), para a resposta dos % de Sequestro de Radicais livres e teor de fenólicos totais mg/EAG.g-1).

Polpa						
% SRL (DPPH)				Fenólicos Totais (mg/EAG.g-1)		
Coefficiente	Estimativa coeficiente do polinômio	Erro Padrão	p	Estimativa coeficiente do polinômio	Erro Padrão	p
b_0	95,19	0,30	0,00	190,67	5,07	0,00
b_1	2,24	0,35	0,00	-14,79	5,98	0,048
b_2	0,18	0,42	0,68	7,97	7,11	0,30
b_{11}	-1,14	0,26	0,00	-39,35	4,47	0,00
b_{22}	0,31	0,45	0,52	-11,73	7,69	0,178
b_{12}	0,035	0,61	0,96	-4,51	10,36	0,678

Casca						
% SRL (DPPH)				Fenólicos Totais (mg/EAG.g-1)		
Coefficiente	Estimativa coeficiente do polinômio	Erro Padrão	p	Estimativa coeficiente do polinômio	Erro Padrão	p
b_0	95,46	0,08	0,00	132,88	8,99	0,02
b_1	1,11	0,09	0,00	-10,59	10,69	0,00
b_2	-0,35	0,11	0,02	-41,42	7,99	0,04
b_{11}	-0,35	0,07	0,00	10,92	12,70	0,00
b_{22}	0,16	0,12	0,23	-55,19	13,74	0,00
b_{12}	-0,47	0,16	0,02	-2,80	18,52	0,88

Fonte: autores.

Os resultados da análise de % SRL na casca do fruto, demonstram que apenas o termo quadrático referente ao tempo ($b_{22}= 0,23$) não foi significativo para percentual de sequestro de radicais livres. Já para a quantificação de fenólicos totais da casca apenas a interação dos

fatores não foi significativa, ($b_{12} = 0,88$), estabelecendo significância todos os demais fatores avaliados.

A Tabela 4 de análise de variância (ANOVA) mostra a validade do modelo pelo teste F e o resíduo que mostra a magnitude do erro experimental. As razões entre o quadrado médio da regressão pelo quadrado médio do resíduo expressam o valor de F_{CAL} ($F_{CAL} = QM_{REGRESSÃO}/QM_{RESÍDUO}$). De acordo com os resultados obtidos para o % de seqüestro de radicais livres para a polpa e casca da guapeva o valor de F tabelado (F_{TAB}) foi menor que o F calculado, mostrando assim a validade do modelo experimental.

Resultado semelhante foi obtido para as concentrações de fenólicos totais, onde os valores de F_{CAL} para polpa (16,58) e para a casca (6,95) foram superiores aos valores de F_{TAB} (4,39).

Nas respectivas análises o valor do resíduo foi baixo quando comparado com a regressão, o valor do erro puro para o % SRL variou de 0,00 a 0,01, enquanto para o teor de fenólicos totais a variação foi de 2,62 a 2,88, indicando boa reprodutibilidade da análise.

Tabela 4 - Análise de variância (ANOVA) para % de Sequestro de Radicais Livres e Fenólicos Totais (mg/EAG.g⁻¹) em amostras de guapeva.

Polpa						
Variáveis Dependentes	Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado
% SRL	Regressão	24,00	5	4,8	12,97	4,39
	Resíduo	2,24	6	0,37		
	Falta de ajuste	2,24	3			
	Erro puro	0,00	3			
	Total	26,24	11			
Fenólicos totais (mg/EAG.g ⁻¹)	Regressão	9.314,58	5	1.862,92	16,58	4,39
	Resíduo	674,06	6	112,34		
	Falta de ajuste	641,23	3			
	Erro puro	2,62	3			
	Total	9.988,64	11			
Casca						
% SRL	Regressão	5,06	5	1,01	40,4	4,39
	Resíduo	0,15	6	0,025		
	Falta de ajuste	0,15	3			
	Erro puro	0,01	3			
	Total	5,21	11			
Fenólicos Totais (mg/EAG.g ⁻¹)	Regressão	11.921,10	5	2.384,22	6,95	4,39
	Resíduo	2.057,77	6	342,96		
	Falta de ajuste	2054,89	3			
	Erro puro	2,88	3			
	Total	13.978,87	11			

Fonte: autores.

O coeficiente de determinação ou explicação (r^2) quantifica a qualidade do ajuste pois fornece uma medida da proporção da variação explicada pela equação de regressão em relação à variação total das respostas (Rodrigues & Iemma, 2005).

Na tabela 5 são apresentando os valores dos coeficientes de determinação (r^2) para sequestro de radicais livres, os quais variaram de 0,91 a 0,97, e para fenólicos, de 0,93 a 0,85, nas análises da polpa e da casca da guapeva respectivamente. Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o modelo quadrático é adequado para descrever as condições de extração, pois em processos biológicos deve-se considerar a influência de

diversos fatores dos grupos compostos. Oliveira & Andolfatto (2014) falam que a extração de compostos bioativos em vegetais torna-se complexos devido a complexidade da composição da matriz vegetal.

Tabela 5 - Equações de regressão em modelo codificado representando a superfície de resposta dos experimentos em percentual de sequestro de radicais livres (%SRL) e teores de fenólicos totais (mg/EAG.g⁻¹) presente em bacaba.

Polpa				
Variáveis dependentes	Equação Y = (% SRL) (Modelo Codificado)	r ²	Erro puro	Valores críticos
% SRL	Y=95,19+02,24X+0,18Z- 1,14X ² + 0,30Z ² +0,035XZ	0,91	0	X=0,49 Y=67,29
Fenólicos totais (mg/EAG.g ⁻¹)	Y=190,67-14,79X+7,97Z- 39,35X ² -11,73Z ² -4,51XZ	0,93	2,61	X=0,37 Y=71,21
Casca				
% SRL	Y=95,46+ 1,11X- 0,35Z- 0,35X ² +0,16Z ² -0,47XZ	0,97	0,01	X=0,44 Y=111,69
Fenólicos totais (mg/EAG.g ⁻¹)	Y=132,88-10,59X- 41,42Z+10,92 X ² -55,19Z ² - 2,80XZ	0,85	2,88	X=0,12 Y=523,65

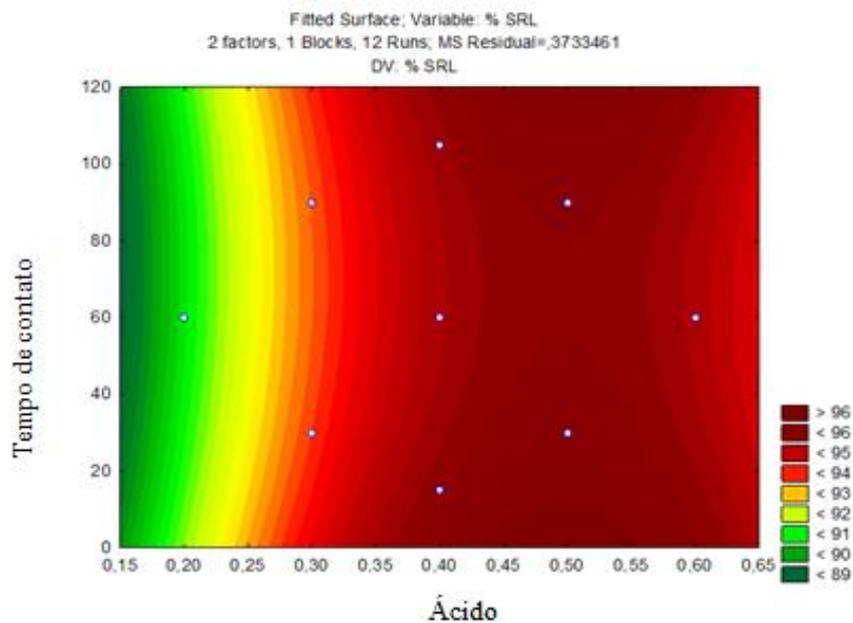
% SRL- Percentual de Sequestro de Radicais Livres; X= concentração de ácido; Z= tempo de contato; r²= coeficiente de determinação; Fcal= (QM_{Regressão}/QM_{Resíduo}). Fonte: autores.

Dada a validade do modelo, a equação de regressão permite prever o efeito dos parâmetros concentração de HCl e tempo de contato no percentual de sequestro de radicais livres e quantidade de fenólicos totais nas amostras de guapeva (polpa e casca) como representado na Tabela 5.

A relação entre as variáveis independentes e a dependente é representada bimendionalmente pela superfície de resposta para as amostras de polpa de guapeva (Figuras 1 e 2) e para a casca de guapeva (Figuras 3 e 4).

Nas análises realizadas para a polpa do fruto, constatou-se através da ASR que a faixa ótima de trabalho para otimização de extração de SRL foi a concentração de HCl de 0,50 mol/L, sendo que o tempo de contado não foi relevante para a extração (Figura 1).

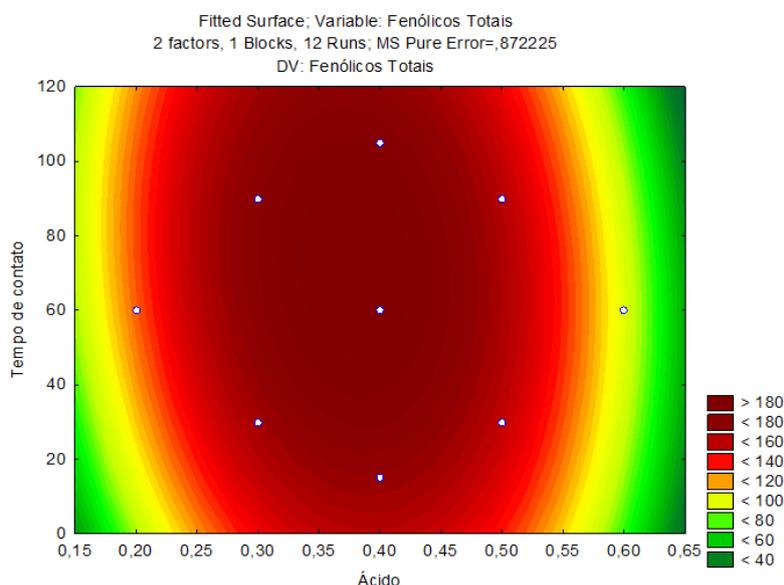
Figura 1. Superfícies de resposta na determinação de % de Sequestro de Radicais Livres em amostra de polpa de guapeva, extração com solvente cetona/metanol em função da concentração de HCL e tempo de contato.



Fonte: autores.

Para a otimização da extração de SRL na casca, a faixa ótima ficou acima de 0,50 mol/L de HCL, com tempo de contato inferior a 30 minutos. Já para fenólicos totais de ambas as partes do fruto, obtiveram faixa ótima de 0,40 mol/L de HCL em 60 minutos de contato (Figura 2).

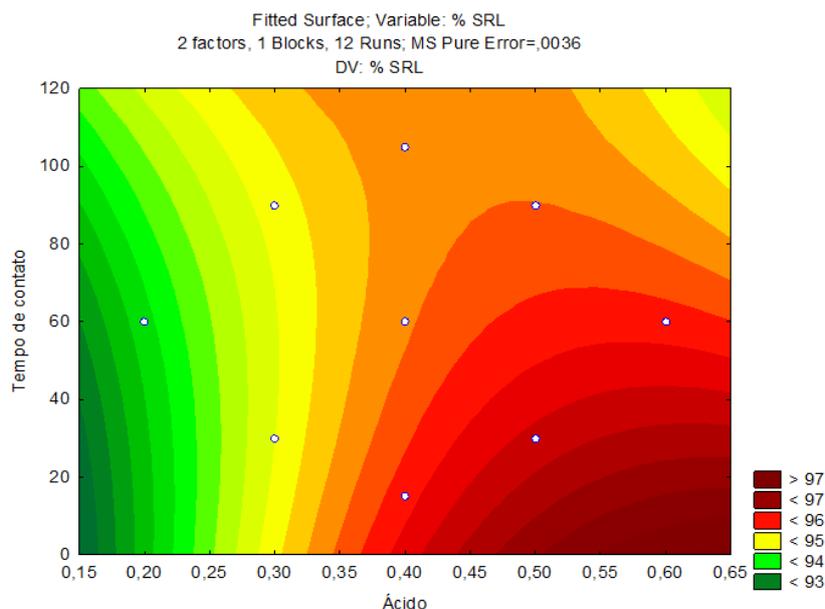
Figura 2. Superfícies de resposta na determinação de Fenólicos Totais em amostras de polpa de guapeva extração com solvente acetona/metanol em função da concentração de HCL e tempo de contato.



Fonte: autores.

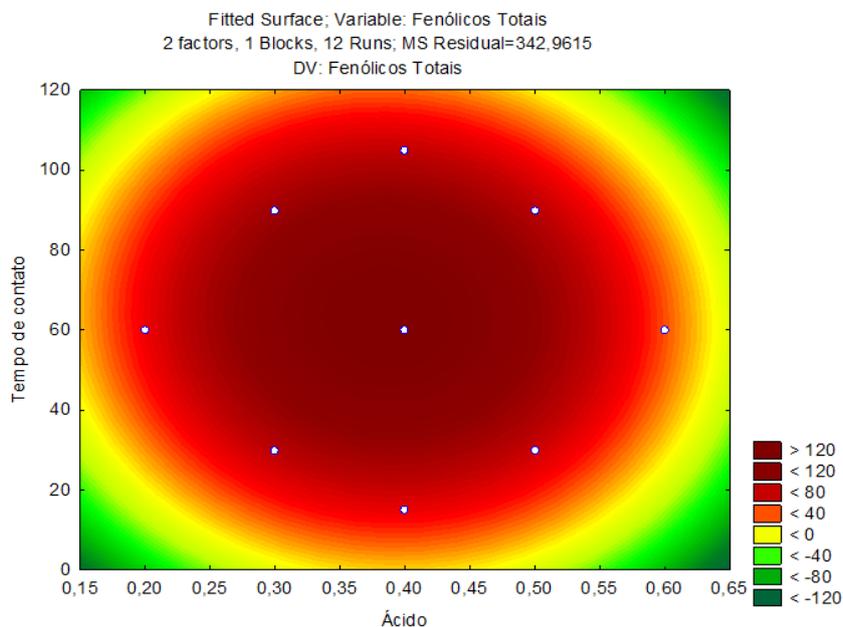
As figuras 3 e 4 apresentam as variáveis independentes representadas bimencionalmente pela superfície de resposta para as amostras da casca da guapeva.

Figura 3 - Superfícies de resposta na determinação de % de Sequestro de Radicais Livres em amostra da casca de guapeva, extração com solvente acetona/metanol em função da concentração de HCL e tempo de contato.



Fonte: autores.

Figura 4 - Superfícies de resposta na determinação de Fenólicos Totais em amostras da casca de guapeva extração com solvente acetona/metanol em função da concentração de HCL e tempo de contato.



Fonte: autores.

A determinação de compostos fenólicos na polpa da guapeva do presente estudo, foram superiores ao encontrado por Siqueira et al. (2017) 79,00 GAE/100g e maiores que os valores encontrados por Silva et al., (2010) para as polpas de caraguatá (27,36 GAE/100g), aracá (33,43 GAE/100g), pateiro (10,93 GAE/100g) e polpas saputá (48,10 GAE/100g).

A combinação dos fatores utilizados no experimento do presente estudo apresentou valores superiores a 90% de SRL, corroborando com os dados obtidos no trabalho para determinação de flavonas e flavonóis, que apresentou resultado satisfatório ao acidificar o solvente com 0,3% de ácido fórmico (Hoffmann-Ribani, & Amaya, 2008).

Resultados inferiores para a determinação da atividade antioxidante utilizando a metodologia do DPHH, foram encontrados em goiaba, pitanga, acerola e abacaxi, obtendo os valores de 83, 81, 71 e 67 %, respectivamente, para SRL (Souza et al.,2012).

Augusta et al. (2010) utilizando o método DPPH encontraram valores de 88% de sequestro de radicais livres para extrato da polpa do jambo maduro, sendo estes inferiores ao apresentado para a polpa e casca da guapeva.

4. Considerações Finais

Constatou-se por meio da análise de superfície de resposta que o experimento mostrou ser um importante método para otimizar e construir modelos preditivos, com acidificação por HCl, para a determinação de atividade antioxidante e fenólicos totais para a fruta guapeva.

Pela ASR foi possível mensurar e determinar as melhores condições para obtenção de %SRL e compostos fenólicos totais. Para o sequestro de radicais livres da casca da guapeva, a acidificação com HCl na concentração de 0,50 mol/L por 30 minutos promoveu maior extração dos composto antioxidantes.

Para extração de compostos fenólicos totais em ambas as partes do fruto, a melhor condição foi de 0,40 mol/L de HCL, com 60 min de contato.

Referências

Alves, AM, Alves, MSO, Fernandes, TO, Naves, RV, Naves, MMV. (2013). Caracterização física e química, fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa e resíduo de gabioba. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35, 837-844.

Augusta, IM, Resende, JM, Borges, SV, Maia, MCA & Couto, MAPG. (2010) Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30, 928-932.

Brasil (2015) Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. *Departamento de Atenção Básica. Alimentos regionais brasileiros*. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 489 p.

Brasil, governo (2009). Marolo: uma frutífera nativa do Cerrado. 17p. (*Boletim Técnico*, 82).

Ferreira, DF. (2000) Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, 45., 2000, São Carlos, SP. *Programa e Resumos...* São Carlos: UFScar, p.235.

Hoffmann-Ribani, R., Amaya, DBR. (2008). Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. *Química Nova*, 31, 1378-84.

Laguerre, M, Lecomte, J, Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Review. Progress in Lipid Research*, 46, 244-282.

Leite, HP & Sarni, RS. (2003). Radicais livres, Antioxidantes, e Nutrição. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 18, 87-94.

Leite, HP, Sarni, RS. (2003) Radicais livres, Antioxidantes, e Nutrição. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 18, 87-94.

Morzelle, MC, Bachiega, P, Souza, EC, Vilas Boas, EVB & Lamounier, ML. (2015). Caracterização química e física de frutos de curriola, gabioba e murici provenientes do cerrado brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37, 096-103.

Pereira, AS et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Acesso em: 13 maio 2020. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Rocha, WS, Lopes, RM, Silva, DD, Vieira, RF, Silva, JD & Agostini-Costa, TDS. (2011). Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33, 1215-1221.

Rodrigues, MI., Iemma, AF. (2005). *Planejamento de experimentos e otimização de processos*. 1ª Ed, Editora Casa do Pão, Campinas, 326p.

Santos, SFM, Souza, RLA, Alcântara, SR, Pinto, GAS, Silva, FLH & Macedo, GRM. (2008). Aplicação da metodologia de superfície de resposta no estudo da produção de pectinase por fermentação. *Revista brasileira de produtos agroindustriais*, 10, 101-109.

Silva, MLC, Costa, RS, Santana, AS & Koblitz, MGB. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31, 669-682.

Silva, MR, Lacerda, DBCL, Santos, GG & Martins, DMO. (2008). Caracterização química de frutos nativos do cerrado. *Ciência Rural*, Santa Maria, 38, 790-1.793.

Silva, GM. (2010) *Potencial antioxidante de frutos do cerrado e do pantanal, no estado de Mato Grosso do Sul*. Dissertação de Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Universidade Federal do Mato Grosso, Campo Grande, 77p.

Siqueira, APS, Oliveira, JDM, Junior, M, Ribeiro, D & Lourenço, MFDC. (2017). Chemical characterization and antioxidant capacity of guapeva. *Revista Brasileira de Fruticultura*, (39) 1-4, SPE.

Souza, VR, Pereira, PAP, Queiroz, F., Borges, SV & Carneiro, JDS. (2012). Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry*, 134, 381-386.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Viviane Ferreira dos Santos – 50%

Caroline Roberta Freitas Pires – 40%

Rodolfo Castilho Clemente – 10%