

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA**

**BÁRBARA OLIVEIRA SANTOS**

**Perfil químico do pericarpo de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) *in natura* e na forma de farinha e o efeito da digestibilidade *in vitro* na bioacessibilidade dos compostos fenólicos**

**Belo Horizonte  
2021**

**BÁRBARA OLIVEIRA SANTOS**

**Perfil químico do pericarpo de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) *in natura* e na forma de farinha e o efeito da digestibilidade *in vitro* na bioacessibilidade dos compostos fenólicos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Doutora em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo

Coorientadora: Profa. Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi

**Belo Horizonte**

**2021**

Santos, Bárbara Oliveira.

S237p Perfil químico do pericarpo de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) *in natura* e na forma de farinha e o efeito da digestibilidade *in vitro* na bioacessibilidade dos compostos fenólicos / Bárbara Oliveira Santos. – 2021.  
108 f. : il.

Orientadora: Raquel Linhares Bello de Araújo.  
Coorientadora: Jacqueline Aparecida Takahashi.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Pequi – Teses. 2. Compostos orgânicos voláteis – Teses. 3. Resíduos agroindustriais – Teses. 4. Acetilcolinesterase – Teses. 5. Compostos fenólicos – Teses. 6. Antioxidantes – Teses. 7. Digestibilidade – Teses. I. Araújo, Raquel Linhares Bello de. II. Takahashi, Jacqueline Aparecida. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 664.8

**Elaborado por Darlene Teresinha Schuler – CRB-6/1759**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

### FOLHA DE APROVAÇÃO

PERFIL QUÍMICO DO PERICARPO DE PEQUI (*CARYOCAR BRASILIENSE* CAMB.) *IN NATURA* E NA FORMA DE FARINHA E O EFEITO DA DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* NA BIOACESSIBILIDADE DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

BÁRBARA OLIVEIRA SANTOS

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo (Orientadora e Presidente da Comissão) - UFMG

Profa. Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi (Coorientadora) - UFMG

Profa. Dra. Michely Capobiango - PUC-MG

Prof. Dr. Christiano Vieira Pires - UFSJ

Dr. Gabriel Barbosa de Oliveira - UFMG

Prof. Dr. Mauro Ramalho Silva - PUC-MG

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por Christiano Vieira Pires, Usuário Externo, em 26/02/2021, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 59 do [Decreto nº 40.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Mauro Ramalho Silva, Usuário Externo, em 26/02/2021, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 59 do [Decreto nº 40.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Jacqueline Aparecida Takahashi, Professora do Magistério Superior, em 26/02/2021, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 59 do [Decreto nº 40.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Raquel Linhares Bello de Araújo, Professora do Magistério Superior, em 26/02/2021, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 59 do [Decreto nº 40.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Michely Capobiango, Usuário Externo, em 26/02/2021, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 3º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Gabriel Barbosa de Oliveira, Biólogo, em 26/02/2021, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 3º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 0586935 e o código CRC 6E1AB4EB.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos e me dar forças para seguir, não me deixando desanimar. Por abençoar minha vida e me capacitar para alcançar meus objetivos.

À minha família por mais uma vez serem alicerce na realização deste sonho. Obrigada pelo amor e confiança a mim dedicados.

Ao Felipe pela paciência, carinho, companheirismo, incentivo e por acreditar em mim e no meu potencial.

Às professoras Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo e Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi pela orientação e oportunidades que sempre me apresentaram.

Aos membros da banca examinadora: Dr. Christiano Vieira Pires, Dr. Gabriel Barbosa de Oliveira, Dr. Mauro Ramalho Silva e Dra. Michely Capobiango. Muito obrigada pelas sugestões e contribuições.

À professora Renata Adriana Labanca por sua assistência na análise de digestibilidade *in vitro* e ao professor Júlio Onésio por sua assistência na análise de espectrometria de massas. Aos professores Rodinei Augusti e Rachel Oliveira Castilho pelos ensinamentos e por abrirem as portas dos seus laboratórios para a execução deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, pela contribuição na minha formação científica.

Aos amigos e colegas dos Laboratórios de Química de Alimentos pelas conversas e ajuda constante.

Aos alunos de iniciação científica Nara, Débora e Maurício por todo auxílio na execução das análises deste trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

A todos aqueles que de alguma forma me auxiliaram nessa caminhada.

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi identificar os compostos orgânicos voláteis (COV) presentes no pericarpo de pequi e produzir farinhas a partir deste resíduo agroindustrial e caracterizá-las quanto à sua composição centesimal, atividade inibitória da acetilcolinesterase, perfil químico e seu potencial antioxidante antes e após o processo de digestibilidade *in vitro*, visando o aproveitamento integral do fruto. Inicialmente, a otimização do método de extração dos COVs presentes no pericarpo de pequi foi realizada empregando-se a HS-SPME/CG-MS e envolveu a avaliação dos parâmetros tipo de fibra (PDMS/DVB e DVB/CAR/PDMS), temperatura de extração (25, 45 e 65 °C), tempo de extração (20, 30 e 40 min) e agitação (0, 50 e 100 rpm). Em seguida, foram preparadas farinhas dos pericarpos de pequi e a composição centesimal e a atividade inibitória da acetilcolinesterase das farinhas foram determinadas. Posteriormente, foi determinado o perfil químico dos compostos presentes nas farinhas utilizando a espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (PS-MS) e empregada a técnica de digestão simulada *in vitro* para avaliar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos e as alterações na atividade antioxidante das amostras. A melhor condição analítica para extração dos COVs foi obtida utilizando a fibra PDMS/DVB, sem agitação, a 65 °C por 40 min. Foram extraídos e identificados 35 compostos presentes no pericarpo de pequi, pertencentes principalmente à classe química dos terpenos (65,71%) e ésteres (14,29%). As farinhas do pericarpo de pequi demonstraram-se superiores em comparação com a polpa do fruto quanto aos teores de proteínas, cinzas e fibras alimentares, e foram classificadas como inibidoras potentes da acetilcolinesterase. Foram identificados 46 compostos químicos utilizando a técnica PS-MS, tais como, aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos e diversos tipos de compostos fenólicos. Além disso, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram aumento da bioacessibilidade dos compostos fenólicos após a digestibilidade *in vitro*, contribuindo para elevar ainda mais a atividade antioxidante das amostras. Concluiu-se que a farinha do pericarpo de pequi possui potencial para ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos alimentícios ou como matéria-prima para extração de compostos bioativos contribuindo, assim, para geração de novos

empregos, redução de desperdício de alimentos e aproveitamento de compostos importantes para a saúde.

**Palavras-chave:** Resíduo agroindustrial. Pericarpo de pequi. Compostos voláteis. Acetilcolinesterase. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante. Digestibilidade *in vitro*. Paper spray.



## ABSTRACT

The aim of the present study was to identify the volatile organic compounds (VOCs) present in the pequi pericarp and to produce flours from this agro-industrial residue and to characterize them in terms of their chemical composition, acetylcholinesterase inhibitory activity, chemical profile and their antioxidant potential before and after the in vitro digestibility process, aiming at the full use of the fruit. Initially, the optimization of the extraction method of volatile organic compounds present in the pequi pericarp using HS-SPME/GC-MS involved the evaluation of the parameters: fiber type (PDMS/DVB and DVB/CAR/PDMS), extraction temperature (25, 45 and 65 °C), extraction time (20, 30 and 40 minutes) and agitation (0, 50 and 100 rpm). Then, flours from the pequi pericarps were prepared and the proximate composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of the flours were determined. Subsequently, the chemical profile of the compounds present in the flours was determined using mass spectrometry by paper spray ionization (PS-MS) and the simulated in vitro digestion technique was used to evaluate the bioaccessibility of the phenolic compounds and changes in the antioxidant activity of the samples. The best analytical condition for the extraction of VOCs was obtained using the PDMS/DVB fiber, without agitation, at 65 °C for 40 min. 35 compounds present in the pequi pericarp were extracted and identified, belonging mainly to the chemical classes of terpenes (65.71%) and esters (14.29%). The pequi pericarp flours proved to be superior in comparison to the fruit pulp in terms of protein, ashes and dietary fibers content, and were classified as potent acetylcholinesterase inhibitors. 46 chemical compounds were identified using the PS-MS technique, such as amino acids, sugars, organic acids and several types of phenolic compounds. In addition, the results obtained in the present study demonstrated an increase in the bioaccessibility of phenolic compounds after in vitro digestibility, contributing to further increase the antioxidant activity of the samples. It was concluded that the pequi pericarp flour has the potential to be used in the development of new food products or as a raw material for the extraction of bioactive compounds, thus contributing to the generation of new jobs, reduction of food waste and use of compounds important for health.

**Keywords:** Agro-industrial residue. Pequi pericarp. Volatile compounds. Acetylcholinesterase. Phenolic compounds. Antioxidant activity. In vitro digestibility. Paper spray.

## LISTA DE FIGURAS

### Revisão de Literatura

Figura 1 - Estrutura do fruto do pequi – <i>Caryocar brasiliense</i> Camb .....	20
Figura 2 - Adsorção e dessorção dos compostos voláteis pelo método HS-SPME.....	22
Figura 3 - Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (A) e hidroxicinâmicos (B) .....	24
Figura 4 - Esqueleto químico dos flavonoides .....	25
Figura 5 - Monômero básico de tanino condensado (A) e estrutura de tanino hidrolisável ( $\beta$ -1,2,3,4,6-pentagaloiil-D-glicose) (B) .....	25
Figura 6 - Estrutura básica do resveratrol .....	26
Figura 7 – Estrutura química das cumarinas .....	26
Figura 8 - Estabilização do radical FRAP .....	28
Figura 9 - Estabilização do radical ABTS <sup>•+</sup> por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio .....	29
Figura 10 - Estabilização do radical livre DPPH .....	30
Figura 11 - Esquema dos principais componentes de um espectrômetro de massas .....	34
Figura 12 - Esquema da fonte de ionização por <i>paper spray</i> .....	36

### Capítulo 1

Figura 1 - Influência dos parâmetros na extração de COVs do pericarpo do pequi .....	62
Figura 2 - Influência do tempo e da temperatura de extração na extração de COVs do pericarpo do pequi .....	63
Figura 3 - Influência da agitação e da temperatura de extração na extração de COVs do pericarpo do pequi .....	64
Figura 4 - Influência da agitação e do tempo de extração na extração de COVs do pericarpo do pequi .....	65

## Capítulo 2

Figura 1 – Diagrama da fonte de ionização por <i>paper spray</i> .....	79
Figura 2 - Representação dos espectros (A) (+)PS-MS e (B) (-)PS-MS de uma amostra da farinha de pericarpo de pequi .....	84
Figura 3 – Escores PC1 e PC2 no modo de ionização positivo (A) e negativo (B) .....	90

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

Tabela 1 - Planejamento fatorial ( $2^3$ ) com triplicatas no ponto central .....	57
Tabela 2 - COVs identificados no pericarpo de pequi utilizando fibras diferentes.....	59

### Capítulo 2

Tabela 1 – Composição química das farinhas do pericarpo de pequi em base seca .....	81
Tabela 2 - Inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase pelas farinhas do pericarpo de pequi .....	83
Tabela 3 - Compostos identificados nas amostras de farinha de pericarpo de pequi por (+)PS-MS .....	85
Tabela 4 - Compostos identificados nas amostras de farinha de pericarpo de pequi por (-)PS-MS .....	86
Tabela 5 - Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de farinhas do pericarpo de pequi antes e após a digestão simulada <i>in vitro</i> .....	91

## LISTA DE ABREVIações

- ABTS - 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
- AChE – Acetilcolinesterase
- AGE – Ácido gálico equivalente
- ANVISA - Agência Nacional Brasileira de Vigilância Sanitária
- AOAC – Associação de Químicos Analíticos Oficiais (*Association of Official Analytical Chemists*)
- CAR/PDMS - Carboxeno/polidimetilsiloxano
- CG – Cromatografia gasosa
- CE – Eletroforese capilar
- COV – Compostos orgânicos voláteis
- CUPRAC - Capacidade antioxidante redutora do íon cúprico (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)
- DA – Doença de Alzheimer
- DESI - Dessorção e ionização por eletrospray (*Desorption electrospray ionization*)
- DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
- DVB/CAR/PDMS - Divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano
- ESI – Ionização por eletrospray (*Electrospray ionization*)
- FRAP - Poder Antioxidante de redução do ferro (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)
- HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência (*High performance liquid chromatography*)
- HS-SPME - Microextração em fase sólida por *headspace*
- MS – Espectrometria de massas (*Mass spectrometry*)
- ORAC - Capacidade de absorção de radicais de oxigênio (*Oxygen radical absorbance capacity*)
- PDMS - Polidimetilsiloxano
- PDMS/DVB - Polidimetilsiloxano/divinilbenzeno
- PS – *Paper spray*
- PS-MS –Espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (*Paper Spray Mass Spectrometry*)
- SSS – Solução salivar simulada
- TACO - Tabela de Composição de Alimentos

TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (*Thiobarbituric acid reactive species*)

TRAP - Potencial antioxidante reativo total (*Total reactive antioxidant potential*)

TROLOX - 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 Objetivo geral .....	16
2.2 Objetivos específicos .....	17
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1 Resíduos agroindustriais .....	17
3.2 Pequi .....	19
3.3 Compostos voláteis .....	21
3.4 Compostos fenólicos .....	23
3.5 Atividade antioxidante .....	27
3.6 Bioacessibilidade de compostos antioxidantes .....	30
3.7 Atividade inibitória de acetilcolinesterase .....	32
3.8 Espectrometria de massas .....	34
3.8.1 Fonte de ionização .....	35
3.8.2 Ionização por <i>paper spray</i> .....	35
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	37
<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	51
<b>4. CAPÍTULO I</b> .....	52
<b>Resumo</b> .....	53
<b>1. Introdução</b> .....	54
<b>2. Material e métodos</b> .....	56
2.1 Material .....	56
2.2 Delineamento experimental .....	56
2.3 Extração dos COVs .....	57
2.4 Análise por cromatografia gasosa e identificação dos compostos voláteis.....	57
<b>3. Resultados e discussão</b> .....	58
<b>4. Conclusão</b> .....	65
<b>5. Agradecimentos</b> .....	65
<b>Referências</b> .....	66
<b>5. CAPÍTULO II</b> .....	71



<b>Resumo</b> .....	72
<b>1. Introdução</b> .....	73
<b>2. Material e métodos</b> .....	75
2.1 Reagentes .....	75
2.2 Preparo das amostras .....	76
2.3 Composição centesimal .....	77
2.4 Atividade inibitória de acetilcolinesterase (AChE) .....	77
2.7 Produção dos extratos .....	78
2.6 Perfil químico por <i>Paper Spray Mass Spectrometry</i> (PS/MS) .....	78
2.7 Compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante .....	79
2.8 Digestibilidade <i>in vitro</i> .....	79
2.9 Análise estatística .....	80
<b>3. Resultados e discussão</b> .....	80
3.1 Composição centesimal .....	80
3.2 Atividade inibitória de acetilcolinesterase .....	82
3.3 Perfil químico por PS/MS .....	84
3.3.1 <i>Fingerprints</i> do modo de ionização positivo .....	85
3.3.2 <i>Fingerprints</i> do modo de ionização negativo .....	86
3.3.3 Análise dos componentes principais (PCA) .....	89
3.4 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante .....	90
<b>4. Conclusão</b> .....	93
<b>Referências</b> .....	94
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	107

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, apresentando mais de 70% de todas as espécies de fauna e flora existentes. O cerrado brasileiro é o segundo maior bioma do país e está localizado nas regiões centro-oeste, sudeste e nordeste. Este possui diversas espécies de plantas de uso medicinal e muitos frutos comestíveis de características peculiares, formas variadas, cores atraentes, sabores incomuns, que além de serem consumidos pela população local, são comercializados em centros urbanos na forma *in natura* ou na forma de suco, licor, sorvete, geleia e outros tipos de doces. Entre os frutos nativos do cerrado, o pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) destaca-se como um exemplo mais expressivo e constitui importante fonte de alimentação e renda para os moradores da região (RIBEIRO *et al.*, 2014; SILVA & FONSECA, 2016).

O fruto do pequi é constituído pelo pericarpo (casca), endocarpo (polpa) e semente. O endocarpo do fruto apresenta elevado teor de carotenoides, compostos fenólicos totais e elevada atividade antioxidante (MACHADO *et al.*, 2015). O pericarpo corresponde à cerca de 80 % da massa total do fruto e é considerado um resíduo agroindustrial, sendo normalmente descartado durante o processamento do pequi (MONTEIRO *et al.*, 2015). Estes resíduos quando não são devidamente tratados causam grandes impactos ambientais, pelo fato de se deteriorarem e servirem como ambiente de proliferação de micro-organismos (ARAGÃO, 2010). Estudos demonstraram que o pericarpo, assim como o endocarpo, possui elevado teor de carotenoides e compostos fenólicos totais com elevada atividade antioxidante (MONTEIRO *et al.*, 2015; LEÃO *et al.*, 2017; SANTOS, 2016).

Destaca-se crescente interesse em caracterizar os resíduos agroindustriais, que na maioria das vezes são desperdiçados, e estabelecer alternativas para a utilização eficiente, econômica e segura dessas matérias orgânicas, visto que são fontes de nutrientes e de diversos compostos bioativos importantes para as funções fisiológicas dos organismos humanos. A utilização desses resíduos pode agregar valor nutricional e comercial aos coprodutos agroindustriais, gerar empregos e, ainda, reduzir problemas de poluição ambiental (HUBER *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2011).

O processamento dos resíduos em farinhas é muito empregado devido ao fato do processo de secagem promover a redução do teor de água livre e, conseqüentemente, reduzir o crescimento de micro-organismos e minimizar as reações químicas que podem ocorrer no produto. Além disso, a redução do teor de água concentra os compostos bioativos, as fibras alimentares e os minerais, reduz as perdas pós colheita e garante maior facilidade de incorporação em diferentes formulações alimentícias (SOQUETTA *et al.*, 2016).

O aroma é um dos principais critérios de qualidade para os frutos e seus subprodutos, sendo decisivo na seleção, aceitação e ingestão alimentar (FERREIRA *et al.*, 2016), além de ser muito importante para a indústria no desenvolvimento de diversos produtos alimentícios (BICAS *et al.*, 2011). Essa característica é formada por uma mistura de compostos orgânicos voláteis, principalmente ésteres, aldeídos, álcoois e terpenos (GARCÍA *et al.*, 2019). Entre os métodos de extração utilizados para determinar os compostos voláteis presentes nas matrizes estudadas, a microextração em fase sólida no modo *headspace* destaca-se pelo fato de ser simples, necessitar tratamento mínimo da amostra, fornecer alta sensibilidade, não requerer solvente e ter baixo custo analítico (JUNIOR *et al.*, 2011; SETKOVA *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2019).

Os compostos bioativos, especialmente os fenólicos, apresentam elevada capacidade antioxidante e o seu consumo vêm sendo associado à prevenção de doenças crônicas não transmissíveis como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, e doenças neurodegenerativas como doença de Alzheimer e Parkinson (ALMINGER *et al.*, 2014; GULLON *et al.*, 2015; ARROZI *et al.*, 2017).

Entretanto, um dos principais fatores limitantes da ação benéfica dos compostos fenólicos no organismo é sua bioacessibilidade, que depende da estabilidade digestiva e da liberação da matriz alimentar (TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2010; STANISAVLJEVIC *et al.*, 2015). A bioacessibilidade é definida como a quantidade de um constituinte alimentar capaz de atravessar a barreira intestinal após sua liberação da matriz alimentar (SAURA-CALIXTO *et al.*, 2007). Estudos indicam que a bioacessibilidade dos compostos fenólicos é afetada por fatores relacionados aos alimentos como as interações com proteínas, lipídeos, carboidratos e fibras alimentares, podendo ser diferente

conforme o tipo de alimento consumido (D'ARCHIVIO *et al.*, 2010; TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2010; GULLON *et al.*, 2015b).

Devido à necessidade de métodos que não demandam pré-tratamento das amostras, as técnicas de ionização ambiente vêm sendo preferidas para caracterização da composição química de alimentos pelo fato de serem mais simples e de baixo custo analítico, possibilitando análises rápidas e sensíveis em diversas matrizes (TEODORO *et al.*, 2017; ZHI-PING; XIAO-NING; YA-JUN, 2014). Dentre as técnicas de ionização ambiente, a espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (PS-MS) tem sido empregada na análise de diversas matrizes alimentares como chás (DENG; YANG, 2013), vinho tinto (DONNA *et al.*, 2017), frutos e vegetais (EVARD *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019), grãos (CAMPELO *et al.*, 2019), bebidas alcoólicas (PEREIRA *et al.*, 2016b; TEODORO *et al.*, 2017), café (GARRETT; REZENDE; IFA, 2013), entre outras.

Diante do exposto, a importância nutricional, econômica e cultural do pequi, as elevadas taxas de geração de resíduos agroindustriais no país e o aproveitamento de resíduos da produção de frutos como uma ferramenta de obtenção de produtos com elevado valor nutricional motivaram o desenvolvimento do presente trabalho. O pericarpo de pequi foi utilizado para produzir farinhas, as quais foram caracterizadas quanto à sua composição centesimal, atividade inibitória da acetilcolinesterase, perfil químico e potencial antioxidante, com a perspectiva de aproveitar este resíduo, agregando valor do ponto de vista tecnológico e nutricional e contribuindo para a cadeia produtiva deste importante fruto do cerrado brasileiro.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Otimizar um método para a extração dos compostos orgânicos voláteis presentes no pericarpo de pequi e desenvolver farinhas a partir deste resíduo agroindustrial e caracterizá-las quanto à sua atividade inibitória da

acetilcolinesterase, perfil químico e potencial antioxidante antes e após o processo de digestibilidade *in vitro*, visando o aproveitamento integral do fruto.

## 2.2 Objetivos específicos

- Otimizar um método para extrair e identificar os compostos orgânicos voláteis do pericarpo de pequi avaliando os efeitos do tipo de fibra SPME, agitação, tempo e temperatura de extração;
- Determinar a composição centesimal das farinhas de pericarpo de pequi;
- Avaliar a atividade inibitória da acetilcolinesterase das farinhas de pericarpo de pequi;
- Determinar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante das farinhas de pericarpo de pequi;
- Avaliar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos e as alterações na atividade antioxidante das amostras após o processo de digestibilidade *in vitro*;
- Identificar os constituintes químicos das farinhas de pericarpo de pequi provenientes de 15 pequizeiros usando a PS-MS.

## 3. REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Resíduos agroindustriais

A produção agrícola é um dos setores econômicos mais importantes para a economia do Brasil. Com o desenvolvimento e modernização desse setor, a produção de alimentos aumentou significativamente e, com isso, houve também aumento da produção de resíduos agroindustriais (BRASIL, 2012). Os resíduos gerados nestas atividades são muito úmidos, apresentam elevada carga microbiana e, quando não são devidamente tratados, causam grandes impactos ao meio ambiente, principalmente aos recursos hídricos e ao solo. Além disto, podem promover um odor desagradável nas proximidades das áreas de descarte e propiciarem um ambiente favorável para a proliferação de

vetores transmissores de doenças como moscas, formigas, ratos e baratas (BANERJEE *et al.*, 2017; BATISTA *et al.*, 2018; SADH *et al.*, 2018).

Os resíduos agroindustriais são gerados tanto nas etapas de seleção de matéria-prima quanto nas diversas fases da fabricação de produtos e são constituídos principalmente por cascas, caroços, sementes, ramas e bagaços (INFANTE *et al.*, 2013; KOWALSKA *et al.*, 2017). Cerca de 20% a 30% da safra de grãos, de frutas e de hortaliças colhidas no Brasil sejam desperdiçados no caminho entre a lavoura e o consumidor (ROSA *et al.*, 2011).

Considerando que aproximadamente 1,3 bilhão de toneladas de alimentos e resíduos agroindustriais são desperdiçados anualmente e o fato de esses resíduos serem fontes de vitaminas, minerais, fibras alimentares e diversos compostos antioxidantes, agregar valor a esses produtos é de interesse ambiental e econômico. Esses resíduos podem ser utilizados no desenvolvimento de novos produtos alimentícios ou como matéria-prima para extração de compostos, dentre estes os bioativos, minerais e agentes antimicrobianos. Dessa forma, contribuem para geração de empregos e renda, e reduzem o desperdício de alimentos e o impacto ambiental (FERRERES *et al.*, 2017; KOWALSKA *et al.*, 2017; MONTEIRO *et al.*, 2020).

Estudos têm demonstrado que os compostos bioativos presentes nas frutas concentram-se principalmente nas cascas e sementes, evidenciando, assim, a importância de se aproveitar esses resíduos agroindustriais (LI *et al.*, 2014; MACHADO *et al.*, 2017; SANTIAGO *et al.*, 2018). Sendo assim, é de grande relevância o desenvolvimento de estudos científicos com o intuito de conhecer o valor nutricional e a qualidade tecnológica desses resíduos, possibilitando a sua utilização eficiente, econômica e segura (SOUSA *et al.*, 2011).

Com o intuito de desenvolver produtos com melhor qualidade e com maior vida de prateleira, técnicas de secagem são frequentemente empregadas pela indústria alimentícia para obtenção de farinhas. O processamento dos resíduos agroindustriais em farinhas é uma alternativa viável para o aproveitamento desses resíduos visto que promove a redução da água livre presente nessas matrizes alimentares, minimizando as reações químicas e microbiológicas. Além disso, a redução da água concentra os nutrientes e compostos bioativos, reduz as perdas pós colheita e garante maior facilidade

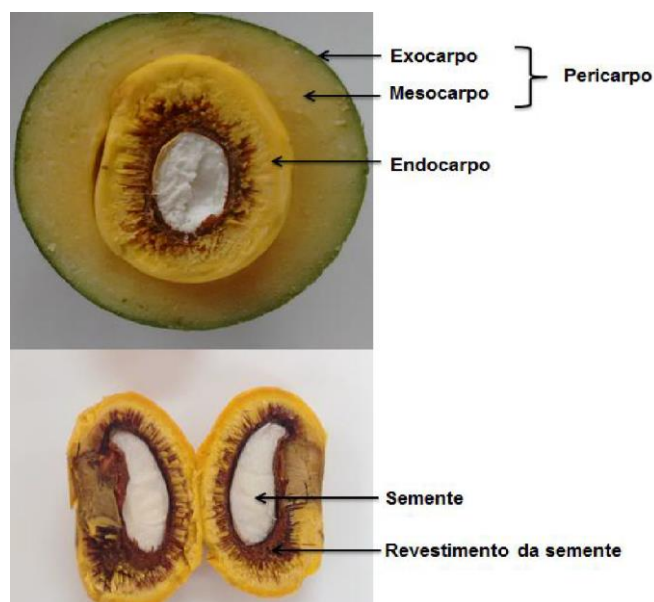
de incorporação em diferentes formulações alimentícias (MONTEIRO *et al.*, 2020; SOQUETTA *et al.*, 2016). As farinhas obtidas através de resíduos agroindustriais podem ser utilizadas na elaboração de bolos, biscoitos, massas, doces e bebidas, além de poderem ser consumidas em sopas ou caldos, garantindo assim o aproveitamento integral de vários alimentos (OLIVEIRA, 2018).

### 3.2 Pequi

O pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) é um fruto nativo do cerrado brasileiro cultivado em vários estados das regiões nordeste, sudeste e centro-oeste do país (LEÃO *et al.*, 2017). Em 2019, a produção de pequi chegou a cerca de 27.000 toneladas no Brasil, sendo o estado de Minas Gerais responsável pela maior parte desta produção (66%) (IBGE, 2019). De acordo com a região de ocorrência, este fruto pode ser conhecido como pequi, piqui, pequi-rasteiro, pequiá e pequierim (GUEDES *et al.*, 2017).

O fruto do pequi é composto pelo exocarpo (porção verde-amarelada), mesocarpo (porção amarelo-claro), endocarpo (porção amarela ou alaranjada, também chamada de polpa), revestimento da semente (porção castanha, dura, revestida por uma camada de espinhos finos e rígidos) e semente (porção branca, também chamada de amêndoa) (MONTEIRO *et al.*, 2015). O conjunto do exocarpo e mesocarpo constitui o pericarpo, também conhecido como casca, e corresponde a 76,7% do fruto (SOUZA *et al.*, 2019) (Figura 1).

**Figura 1** – Estrutura do fruto do pequi – *Caryocar brasiliense Camb.*



Fonte: Arquivo pessoal.

Apesar da sua exploração ainda ser puramente extrativista, o pequi apresenta grande importância econômica para os moradores da região do cerrado brasileiro, sendo fonte de renda e alimentação (PINTO *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2015).

O endocarpo do pequi é rico em lipídeos, fibras alimentares, vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos e é muito utilizado na elaboração de várias preparações como arroz com pequi, conservas, geleias, e outros doces (BIAZOTTO *et al.*, 2019; SILVA & FONSECA, 2016; TORRES *et al.*, 2018). Além disso, o óleo extraído do endocarpo apresenta propriedades anti-inflamatórias, e é empregado no preparo de licores e manteigas, na produção de lubrificantes e combustíveis, e na indústria cosmética (GUEDES *et al.*, 2017; NASCIMENTO-SILVA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2015).

A semente do fruto do pequi é rica em lipídeos, proteínas, fibras alimentares e antioxidantes (NASCIMENTO-SILVA & NAVES, 2019) e costuma ser utilizada no preparo de farofas, paçocas, doces, além de ser consumida também como petisco (SILVA & FONSECA, 2016).

Já o pericarpo é considerado um resíduo agroindustrial e normalmente é descartado durante o processamento do fruto. Estudos têm sido realizados com o intuito de verificar a viabilidade da utilização desse resíduo na elaboração de produtos destinados à alimentação humana e demonstraram



elevado teor de carboidratos, fibras alimentares, carotenoides, e compostos fenólicos (AMORIM *et al.*, 2016; COUTO, 2007; LEÃO *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2017; SOARES JÚNIOR *et al.*, 2010). Breda *et al.* (2016) utilizando o extrato etanólico do pericarpo de pequi identificaram a presença de ácido gálico, ácido quínico, ácido elágico, glucogalina e corilagina, que conferiram atividade antifúngica contra *Alternaria alternata*, *Alternaria solani* e *Venturia pirina*. Em relação ao teor de ácidos graxos, o pericarpo apresenta predominância de ácido oléico (54,3 %), linoléico (4,2 %) e linolênico (1,8 %) (RIGUEIRA, 2003), sendo uma boa opção para melhorar o perfil lipídico da dieta. O melhor aproveitamento desta porção do fruto constitui relevante atividade econômica, social e ecológica, uma vez que possibilita a ampliação dos lucros, a geração de novos empregos, o desenvolvimento de novos produtos e a redução de produção de resíduo agroindustrial (COUTO, 2007).

### 3.3 Compostos voláteis

O sabor e o aroma são as características sensoriais que mais interferem na aceitabilidade dos alimentos pelos consumidores (FERREIRA *et al.*, 2016). Essas propriedades sensoriais são formadas pela interação entre diversos compostos voláteis e não voláteis. Os compostos voláteis são responsáveis pelo aroma característico dos alimentos e os compostos não voláteis pela percepção de sabores básicos e sensações quiméticas (ROCHA *et al.*, 2017).

Os compostos voláteis presentes nos alimentos são normalmente ésteres, aldeídos, álcoois e terpenos (GARCÍA *et al.*, 2019) e são muito importantes para a indústria para o desenvolvimento de diversos produtos alimentícios (BICAS *et al.*, 2011).

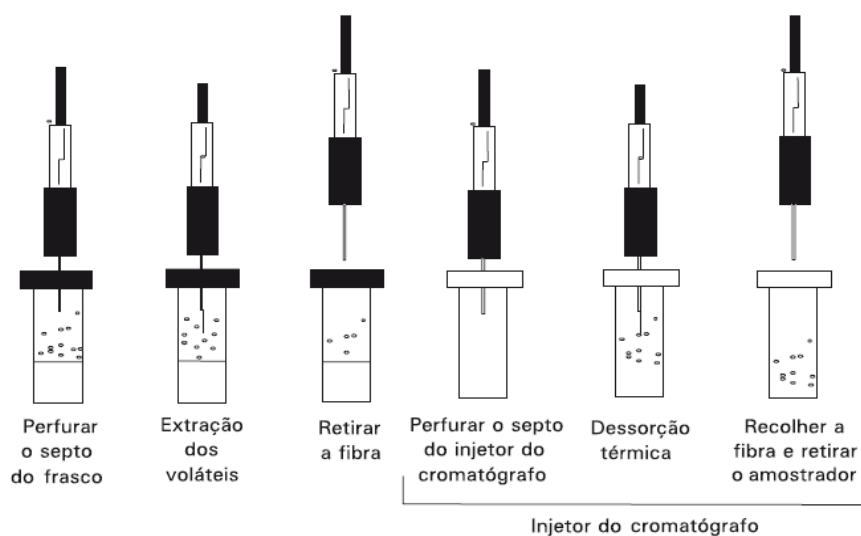
A determinação dos compostos voláteis de alimentos é comumente realizada por métodos que incluem uma etapa de extração dos compostos presentes na matriz alimentar seguida de separação usando cromatografia gasosa e identificação por espectrometria de massas. A etapa de extração é muito importante para a determinação dos compostos voláteis e pode ser realizada por diferentes métodos como *headspace* dinâmico, destilação por arraste de vapor, destilação a vácuo, *purge and trap* e extração por destilação

simultânea (FRATINI *et al.*, 2012). No entanto, esses métodos são laboriosos, demorados, utilizam grande quantidade de solvente e estão sujeitos a erros devido à possibilidade de produção de artefatos que causam interpretação errônea da composição de compostos voláteis dos alimentos (JUNIOR *et al.*, 2012; MESQUITA *et al.*, 2017).

Uma alternativa para a utilização desses métodos é a microextração em fase sólida por *headspace* (HS-SPME) que é uma técnica simples, rápida, altamente sensível, fácil de ser executada, necessita de pouca quantidade de amostra, não requer uso de solvente e é de baixo custo (ROCHA *et al.*, 2017; SANTANA *et al.*, 2017).

O método HS-SPME baseia-se na extração de analitos presentes nas amostras utilizando uma fibra de sílica revestida com uma camada adsorvente. A fibra é exposta ao *headspace* (espaço vazio formado pela amostra acondicionada em um sistema fechado) e ocorre um processo de transferência de massa até atingir um estado de equilíbrio entre a amostra e o revestimento da fibra. Em seguida, a fibra é introduzida no sistema cromatográfico para dessorção térmica dos compostos adsorvidos (Figura 2) (ZACARONI *et al.*, 2017).

**Figura 2** – Adsorção e dessorção dos compostos voláteis pelo método HS-SPME.



Fonte: CANUTO *et al.*, 2011.

O tipo de revestimento e espessura da fibra SPME são alguns dos fatores que mais influenciam na extração dos compostos voláteis. Para escolher a fibra que será utilizada na análise devem-se levar em conta as características de polaridade e peso molecular dos analitos de interesse presentes nas amostras a serem analisadas (CANUTO *et al.*, 2011; XU *et al.*, 2016).

Além do tipo de fibra utilizado, outros parâmetros como o tempo e temperatura de extração e a agitação também influenciam na capacidade de extração dos compostos voláteis (ZACARONI *et al.*, 2017).

Devido ao fato de diversos fatores influenciarem na extração dos compostos voláteis pelo método HS-SPME, recomenda-se realizar uma otimização dos processos de extração utilizando ferramentas estatísticas multivariadas para identificar as melhores condições analíticas para a determinação dos compostos voláteis presentes na matriz a ser analisada (JUNIOR *et al.*, 2011).

### **3.4 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos representam um grande grupo de metabólitos secundários de plantas derivados do metabolismo da glicose. Esses compostos são sintetizados durante o desenvolvimento normal das plantas e em resposta à ação de predadores, radiação ultravioleta, escassez de nutrientes, entre outros (MRID *et al.*, 2019). Os compostos fenólicos possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila e sua estrutura pode variar de uma simples molécula fenólica a compostos altamente polimerizados (GE *et al.*, 2020).

Os compostos fenólicos atuam como atrativos para polinizadores, pigmentação de plantas, além de apresentarem ação antibacteriana e antifúngica (HAMINIUK *et al.*, 2012; LIN *et al.*, 2016). Nos alimentos, podem contribuir para o sabor amargo, adstringência, cor, odor e estabilidade oxidativa dos produtos (SANCHO *et al.*, 2015). Além dessas funções, os compostos fenólicos apresentam elevada atividade antioxidante e o seu consumo vêm sendo associado à prevenção de doenças crônicas não transmissíveis como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, e doenças neurodegenerativas

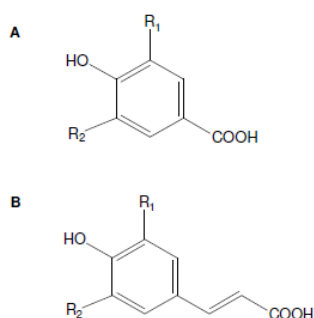
como doença de Alzheimer e Parkinson (ARROZI *et al.*, 2017; XIANG *et al.*, 2019).

O teor desses compostos presentes nas plantas varia conforme a variedade do vegetal, grau de maturação, localização geográfica, condições climáticas e composição do solo (HAMINIUK *et al.*, 2012).

No grupo dos compostos fenólicos destacam-se os ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados (UDEH *et al.*, 2017).

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por apresentarem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes para os vegetais (CHEN *et al.*, 2020). Estes compostos são classificados em ácido hidroxibenzoico e ácido hidroxicinâmico (Figura 3). Os ácidos hidroxibenzoicos incluem os ácidos gálico, p-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico e siríngico e estão presentes em poucas plantas comestíveis, já os ácidos hidroxicinâmicos como os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico e sináptico são mais comuns na alimentação (ZHOU *et al.*, 2016).

**Figura 3** - Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (A) e hidroxicinâmicos (B).

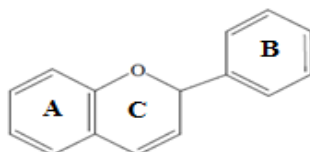


Fonte: Arquivo pessoal.

Os flavonoides encontram-se naturalmente nas frutas, folhas, sementes e em outras partes das plantas (RIBEIRO, 2016). São compostos de baixo peso molecular, consistindo em 15 átomos de carbono, organizados na configuração C6–C3–C6, além de dois anéis aromáticos interligados por um

anel heterocíclico oxigenado (WANG *et al.*, 2018), como demonstrado na Figura 4.

**Figura 4** - Esqueleto químico dos flavonoides.

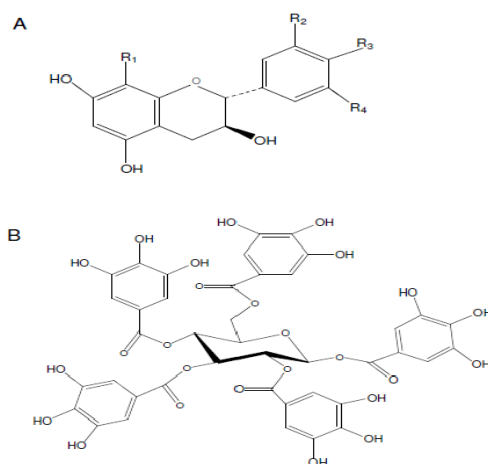


Fonte: Arquivo pessoal.

Alterações nos anéis A e B resultam em vários tipos de flavonoides como flavonois, flavonas, flavononas, flavanois (ou catequinas), isoflavonas e antocianinas (ANGELO & JORGE, 2007).

Os taninos são compostos fenólicos que possuem peso molecular relativamente alto (500 a 3000 Da), possuindo a habilidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, gelatinas e alcaloides. Conforme sua estrutura química, os taninos são classificados em dois grupos: hidrolisáveis (C6-C1)<sub>n</sub> e condensados (C6-C3-C6)<sub>n</sub> (Figura 5). Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos gálico e elágico glicosilados, onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos (MONTEIRO *et al.*, 2015). Já os condensáveis, também denominados proantocianidinas, são oligômeros e polímeros de flavan-3-ol (catequina) e/ou flavan-3,4-diol (leucocianidina). Quando em contato com proteínas salivares, formam complexos que são responsáveis pelo sabor adstringente característico de algumas frutas, como uva, pêssigo, caqui, maçã, pera, etc., e de algumas bebidas como vinho, cidra, chá e cerveja (RIBEIRO, 2011).

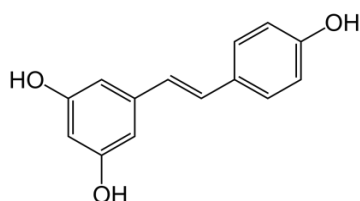
**Figura 5** - Monômero básico de tanino condensado (A) e estrutura de tanino hidrolisável (b-1,2,3,4,6-pentagalossil-D-glicose) (B).



Fonte: Arquivo pessoal.

Os estilbenos (C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) (Figura 6) são encontrados em pequenas quantidades na dieta humana. O resveratrol é o estilbeno que mais tem sido estudado devido aos seus efeitos anticarcinogênicos, sendo encontrado principalmente em uvas, mirtilos e vinho tinto (RIBEIRO, 2011).

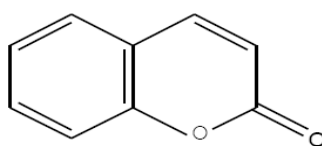
**Figura 6** - Estrutura básica do resveratrol.



Fonte: Arquivo pessoal.

As cumarinas (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) são derivadas do ácido o-hidroxicinâmico (2H-1-benzopirran-2-onas) (Figura 7) e devido ao seu odor forte são muito utilizadas como aromatizantes industriais (ROCHA; KUSTER, 2010).

**Figura 7** – Estrutura química das cumarinas.



Fonte: Arquivo pessoal.

### 3.5 Atividade antioxidante

Os compostos antioxidantes são substâncias que atuam como agentes redutores, captadores de radicais livres e quelantes de metais, minimizando o dano oxidativo no organismo e prevenindo a deterioração oxidativa dos alimentos (VITAL *et al.*, 2018).

Os radicais livres são formados por átomos ligados entre si, que apresentam um elétron desemparelhado na última camada. Essas espécies são altamente reativas e ameaçam a integridade celular por meio da oxidação de biomoléculas, podendo comprometer processos biológicos importantes (DI MEO & VENDITTI, 2020)

A produção desses radicais livres é normalmente controlada por antioxidantes endógenos. Entretanto, os processos inflamatórios, alimentação inadequada e consumo de álcool e tabaco causam uma produção excessiva dos radicais oxidantes. Esse desequilíbrio é chamado de estresse oxidativo e está associado ao desenvolvimento de doenças crônicas, inflamatórias e degenerativas e ao envelhecimento (GAM *et al.*, 2020; JAMSHIDI-KIA *et al.*, 2020).

Devido ao fato de os antioxidantes endógenos não serem totalmente eficientes na proteção dos componentes celulares em situações de estresse severo, compostos antioxidantes obtidos da dieta, principalmente por meio do consumo de frutas e hortaliças, são indispensáveis para a defesa apropriada contra oxidação e, por este motivo, têm importante papel na manutenção da saúde (HAMINIUK *et al.*, 2012). Neste sentido, diversos estudos têm sido realizados para avaliar a atividade antioxidante dos alimentos.

Considerando que os alimentos são matrizes muito complexas e que podem apresentar muitos interferentes para as análises, vários métodos com mecanismos diferentes têm sido utilizados para avaliação da atividade antioxidante (SHAHIDI & ZHONG, 2015).

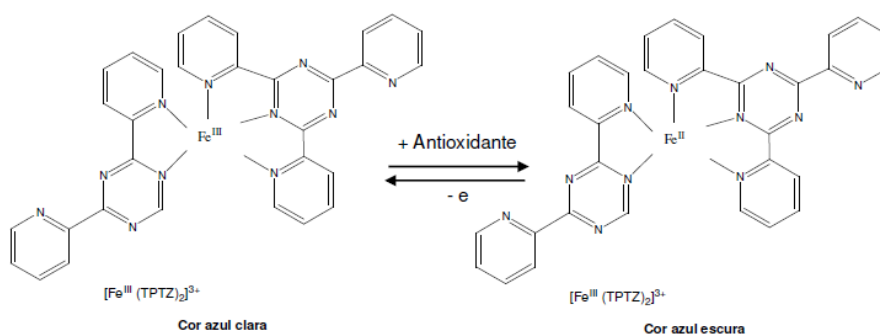
Não existe um método universal para avaliar de forma precisa a atividade antioxidante dos alimentos, desta forma, recomenda-se que vários

métodos sejam utilizados para analisar uma mesma amostra, para garantir uma avaliação mais confiável (SILVA *et al.*, 2019).

Dentre as metodologias utilizadas estão os métodos que se baseiam na captura do radical peroxila como o ORAC (Capacidade de absorção de radicais de oxigênio) e o TRAP (Potencial antioxidante reativo total), os relacionados à capacidade de redução de metal como o CUPRAC (Capacidade antioxidante redutora do íon cúprico) e o FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro), os que avaliam a capacidade de eliminação de radical orgânico como o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e o ABTS (2,2'-azinobis(3- etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)) (SHAHIDI & ZHONG, 2015; GRANATO *et al.*, 2018). Dentre os métodos citados, os métodos FRAP, ABTS, DPPH são os mais utilizados para realizar a determinação da atividade antioxidante (SILVA *et al.*, 2019).

O método FRAP baseia-se na capacidade dos antioxidantes em reduzirem, em pH ácido, um complexo férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) para um complexo ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) de cor azul intensa, conforme apresentado na Figura 8 (SHAHIDI & ZHONG, 2015).

**Figura 8** - Estabilização do radical FRAP.



Fonte: Arquivo pessoal.

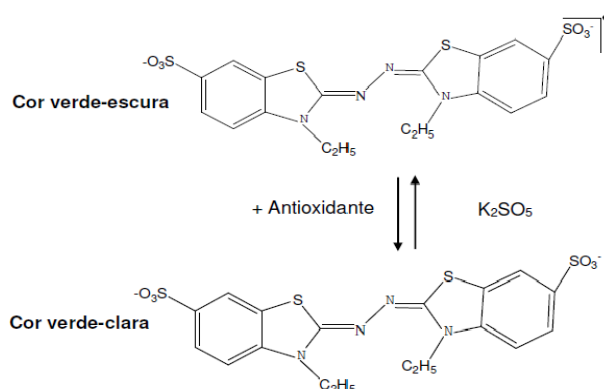
Para isso, prepara-se o reagente FRAP através da combinação de uma solução de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) com tampão acetato e cloreto férrico. O sulfato ferroso é utilizado como padrão para a curva de calibração e a



absorbância é lida a 595 nm, sendo os resultados expressos em  $\mu\text{M}$  sulfato ferroso  $\text{g}^{-1}$  de amostra (GULÇIN, 2012).

O método ABTS avalia a capacidade dos antioxidantes em estabilizarem o cátion  $\text{ABTS}^+$ . Este radical apresenta coloração azul-esverdeada e a sua formação se dá pela reação do ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) com solução de persulfato de potássio (SHAHIDI & ZHONG, 2015). A atividade antioxidante das amostras é determinada pela descoloração do ABTS, medindo-se a redução do radical a uma absorbância de 734 nm (Figura 9). O trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) é utilizado como padrão e os resultados são expressos como equivalente trolox  $\text{g}^{-1}$  amostra (OLDONI, 2010).

**Figura 9** - Estabilização do radical  $\text{ABTS}^{++}$  por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

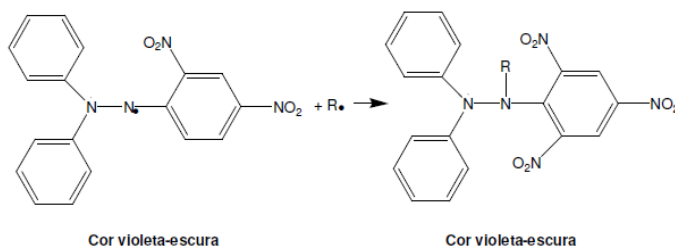


Fonte: Arquivo pessoal.

O método DPPH avalia a capacidade dos antioxidantes das amostras em neutralizar o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Esse radical apresenta-se na forma estável devido à deslocalização do elétron desemparelhado na molécula, o que proporciona uma coloração violeta escura. Quando antioxidantes são adicionados ao meio reacional, ocorre a redução do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil a 2,2-difenil-1-picrilhidrazina com alteração da cor violeta-escura para violeta-clara ou amarela pálida dependendo do poder antioxidante das amostras, conforme apresentado na Figura 10 (GULÇIN,

2012; HAMINIUK *et al.*, 2012; SHAHIDI & ZHONG, 2015). O Trolox é utilizado como padrão para a curva de calibração e a leitura é feita a 517 nm, sendo os resultados expressos tanto como CE50, o qual referem-se à quantidade de antioxidante necessária para reduzir 50% dos radicais DPPH, quanto por equivalentes trolox  $\text{g}^{-1}$  amostra (SHAHIDI & ZHONG, 2015).

**Figura 10** - Estabilização do radical livre DPPH.



Fonte: Arquivo pessoal.

### 3.6 Bioacessibilidade de compostos antioxidantes

Os compostos fenólicos são os principais componentes alimentares responsáveis pelas propriedades antioxidantes de muitos alimentos (BOUAYED *et al.*, 2011), desempenhando papel importante na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes, doenças cardiovasculares, além de câncer e doenças neurodegenerativas (JAMSHIDI-KIA *et al.*, 2020). No entanto, a quantidade destes compostos presentes nos alimentos nem sempre reflete a quantidade total que pode ser absorvida e metabolizada pelo corpo humano, visto que podem ser sensíveis às condições do processo de digestão (MOSELE *et al.*, 2016; RIBEIRO, 2016).

Diversos estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de avaliar as possíveis alterações na intensidade da atividade antioxidante de diferentes matrizes alimentares após o processo da digestão gastrointestinal (KHOCHAPONG *et al.*, 2021; LIMA *et al.*, 2017; PELLEGRINI *et al.*, 2017).

Ao longo do trato gastrointestinal, os alimentos são expostos a diferentes condições físicas (temperatura), químicas (pH) e bioquímicas (enzimas), gerando diversas transformações nos compostos alimentares (MOSELE *et al.*, 2016). Essas transformações podem causar aumento, redução ou não afetar a

bioacessibilidade dos compostos antioxidantes. O aumento desta atividade associa-se a alguma alteração estrutural ou formação de novos compostos, que permitam a melhoria das propriedades antioxidantes. Por sua vez, a redução da atividade pode estar associada à diminuição da forma antioxidante presente ou à formação de pró-oxidantes (RIBEIRO, 2016).

A bioacessibilidade é definida como a fração de um composto que é liberada da matriz alimentar após o processo de digestão gastrointestinal e, portanto, torna-se disponível para ser absorvida no intestino e entrar na corrente sanguínea (THAKUR *et al.*, 2020).

Para avaliar a bioacessibilidade de nutrientes e compostos bioativos diversas metodologias podem ser aplicadas como estudos *in vivo* (por exemplo, estudos em animais e humanos), *in situ* (por exemplo, perfusão intestinal animal), *ex vivo* (por exemplo, avaliações em órgãos gastrointestinais laboratoriais) e *in vitro* (por exemplo, digestão gastrointestinal simulada, membranas artificiais e culturas celulares) (PELLEGRINI *et al.*, 2017). Os métodos *in vitro* que simulam os processos de digestão gastrointestinal têm sido muito utilizados nos últimos anos para avaliar a bioacessibilidade de compostos bioativos por serem métodos rápidos, menos dispendiosos e não apresentarem restrições éticas (SHAHIDI & PENG, 2018).

Os métodos de digestão simulada incluem as fases oral, gástrica e intestinal e utilizam soluções salinas e enzimas digestivas em concentrações, pH e temperaturas específicas com o intuito de imitar as condições fisiológicas *in vivo*. Existem diversos protocolos de digestão *in vitro*, com diferentes etapas, condições de incubação, tipos de enzimas e concentração de eletrólitos o que, dificulta a comparação direta entre os resultados obtidos nos diferentes estudos. Essa dificuldade levou à elaboração de um protocolo contendo o resultado de um consenso internacional de mais de 200 cientistas, com o intuito de consolidar as condições para a digestão simulada de alimentos, padronizando os parâmetros das fases oral, gástrica e intestinal (MINEKUS *et al.*, 2014).

Nesse protocolo, a fase oral consiste inicialmente na redução do tamanho das partículas da matriz alimentar através de maceração e na adição da solução salivar simulada (SSS), para imitar o processo de formação do bolo alimentar, pronto para ser deglutido. A solução salivar simulada é composta por

vários eletrólitos, como sódio, cálcio, potássio, magnésio, fosfatos e bicarbonato, além da enzima  $\alpha$ -amilase. A quantidade de SSS utilizada deve ser suficiente para a amostra ficar na consistência de pasta e o tempo de incubação preconizado é de 2 minutos sob agitação e aquecimento. Na fase gástrica, o principal objetivo é a clivagem das proteínas, pela ação da enzima pepsina em meio ácido (pH 3,0) sob agitação e aquecimento por duas horas. Do mesmo modo, é empregada uma solução gástrica simulada, contendo eletrólitos em concentrações que se assemelham ao conteúdo gástrico. Por fim, a fase intestinal também é realizada sob agitação e aquecimento por duas horas, com neutralização do meio para pH 7,0 e adição da solução intestinal simulada, sais biliares e a enzima pancreatina (MINEKUS *et al.*, 2014).

### **3.7 Atividade inibitória de acetilcolinesterase**

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima serina-hidrolase pertencente à classe das colinesterases. Essa enzima é encontrada principalmente nas junções neuromusculares e nas sinapses cerebrais colinérgicas e é responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina na fenda sináptica do cérebro (COLOVIC *et al.*, 2013).

A acetilcolina é sintetizada a partir da acetil-coenzima A e da colina pela enzima colina acetiltransferase. Após sua síntese, a acetilcolina fica armazenada em vesículas aguardando um estímulo para ser liberada na fenda sináptica, onde atua nos receptores pré-sinápticos regulando sua liberação adicional e nos receptores pós-sinápticos regulando a neurotransmissão. A enzima AChE, que também localiza-se na fenda sináptica, finaliza a transmissão dos impulsos nervosos hidrolisando a acetilcolina em acetato e colina (ARAÚJO *et al.*, 2016).

A doença de Alzheimer (DA) é uma síndrome multifatorial derivada de um conjunto complexo de fatores neuroquímicos, que envolvem a deficiência de acetilcolina sináptica, como anteriormente discutido. Ocorre também devido à deficiência de outros neurotransmissores relacionados, o estresse oxidativo, a formação do peptídeo beta-amiloide neurotóxico, entre outros (FANG *et al.*, 2016). Esta doença neurodegenerativa normalmente se inicia com perdas de memória de curto prazo e continua com disfunção emocional e cognitiva mais

generalizada, distúrbios neuropsiquiátricos e comportamentais, e dificuldade em realizar as tarefas diárias simples (BARROS *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2020).

Algumas substâncias possuem a capacidade de inibir a ação da AChE, reduzindo a degradação da ACh, o que aumenta sua concentração sináptica e os efeitos da neurotransmissão pós-sináptica (BARROS *et al.*, 2020). Devido à capacidade de modificar a transmissão colinérgica, os inibidores de acetilcolinesterase são utilizados no tratamento da doença de Alzheimer com o objetivo de reduzir os sintomas provocados pela doença (SOUZA, 2011; YATES *et al.*, 2019).

Dentre os fármacos que exibem perfil anticolinesterásico, apresentando resultados promissores para o tratamento da doença de Alzheimer encontram-se tacrina, donepezil, fisostigmina e galantamina. A tacrina vem tendo sua aplicação limitada devido à sua hepatotoxicidade, o que tem levado pacientes a interromperem o tratamento (FANG *et al.*, 2016; VIEIRA, 2007). Os outros fármacos não geram hepatotoxicidade, entretanto podem ocasionar efeitos adversos como náusea, vômito, diarreia, alterações no sono, bradicardia, fadiga, entre outros (SOUZA, 2011).

A diversidade estrutural dos inibidores de AChE conhecidos têm estimulado o desenvolvimento de estudos utilizando várias espécies vegetais e micro-organismos, com o intuito de identificar novas fontes de inibidores de AChE (HASSAN *et al.*, 2020). Segundo Trevisan e Macedo (2003), o guaraná, cumaru e alecrim-pimenta são algumas das plantas identificadas com capacidade de inibição de 65 % a 100 % da atividade desta enzima.

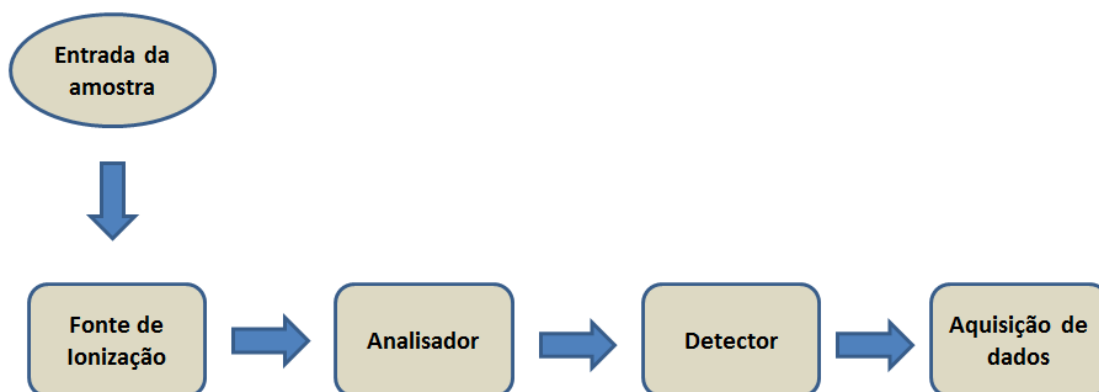
A estratégia terapêutica anticolinesterásica associada à utilização de compostos antioxidantes têm gerado um retardo da doença de Alzheimer na população de idosos em cerca de seis anos, contribuindo para uma redução em torno de 45% nos recursos aplicados em saúde pública para esta doença. Sendo assim, a identificação de novas substâncias inibidoras da AChE, provenientes de matérias-primas abundantes no Brasil, possibilitarão o pronto provimento à população, com medicamentos com esse perfil terapêutico a um custo muito menor (VIEIRA, 2007).

### 3.8 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas (MS) é uma técnica analítica altamente seletiva e sensível, capaz de identificar e quantificar uma grande variedade de compostos presentes em matrizes complexas (SILVA *et al.*, 2019). Dentre as suas diversas aplicações estão a avaliação da autenticidade e origem de alimentos, investigação forense, desenvolvimento de medicamentos, diagnósticos clínicos, monitoramento ambiental, entre outras (SILVA, 2014).

Nesta técnica as moléculas presentes nas amostras são ionizadas e separadas conforme suas razões massa/carga ( $m/z$ ) e posteriormente detectadas. Os componentes do espectrômetro de massas estão apresentados na Figura 11.

**Figura 11** - Esquema dos principais componentes de um espectrômetro de massas.



Fonte: Autora.

A amostra é introduzida no equipamento e direcionada para a fonte de ionização que produz íons dos analitos presentes na amostra. Em seguida, esses íons são separados de acordo com suas respectivas  $m/z$  por um ou mais analisadores de massas e encaminhados para o detector, onde os íons separados pelo analisador são quantificados através da conversão dos íons em sinais elétricos. Esses sinais elétricos são enviados para um sistema de aquisição de dados que gera os espectros de massas (gráficos da relação

entre a intensidade relativa dos íons detectados e suas respectivas  $m/z$ ) (JURISCH, 2019; SILVA, 2014).

### 3.8.1 Fonte de ionização

Para analisar os compostos presentes em uma amostra no espectrômetro de massas é necessário que eles sejam previamente ionizados. Diversas técnicas podem ser utilizadas para realizar essa ionização e o método adequado vai depender dos compostos específicos a serem analisados, pois cada método tem suas vantagens para grupos funcionais orgânicos e estruturas químicas específicos (SILVA *et al.*, 2019).

Os métodos de ionização tradicionais, como a ionização por elétrons e a ionização química, são realizados em alto vácuo e por este motivo são mais adequados para análise de compostos voláteis e termicamente estáveis (FANG *et al.*, 2020).

Nas últimas décadas, a introdução de fontes de ionização capazes de funcionar à pressão atmosférica permitiu a simplificação das análises e o aumento do escopo de amostras possíveis de serem analisadas (JURISCH, 2019).

As técnicas de ionização ambiente são caracterizadas pela análise direta das amostras em temperatura e pressão ambiente, sem necessidade de preparo prévio, com rapidez, alta sensibilidade e seletividade. Destacam-se os métodos ionização por eletrospray (ESI), dessorção e ionização por eletrospray (DESI) e a ionização por *paper spray* (PS) (SILVA *et al.*, 2019).

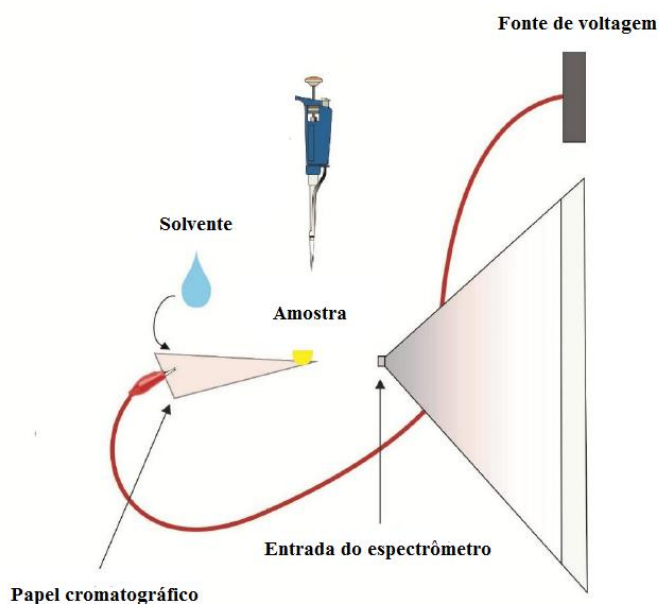
### 3.8.2 Ionização por *paper spray*

O método de ionização por *paper spray* proposto por Wang *et al.* (2010) vêm ganhando maior destaque nos últimos anos por ser uma técnica rápida, de baixo custo, seletiva, sensível, requerer mínimo preparo de amostras e ser aplicável na análise de amostras complexas.

Neste método (Figura 12), a amostra (1 a 5  $\mu\text{L}$ ) é adicionada em um papel cromatográfico triangular juntamente com um solvente (10-50  $\mu\text{L}$ ). Esse papel é direcionado para a frente do espectrômetro de massas (0,5 a 1 cm)

utilizando um clipe metálico conectado a uma fonte de alta tensão. Um alto campo elétrico é aplicado para realizar a ionização. Em seguida, ocorre a formação de um spray com gotículas eletricamente carregadas que vão em direção à entrada do espectrômetro de massas para serem analisadas (PEREIRA *et al.*, 2016a; SINEHA *et al.*, 2017).

**Figura 12** - Esquema da fonte de ionização por *paper spray*.



Fonte: SILVA, 2019.

Devido às suas características, a técnica PS-MS tem sido utilizada em estudos de diversas matrizes alimentares como chás (DENG; YANG, 2013), vinho tinto (DONNA *et al.*, 2017), frutas e vegetais (EVARD *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019), grãos (CAMPELO *et al.*, 2019), bebidas alcoólicas (PEREIRA *et al.*, 2016b; TEODORO *et al.*, 2017), café (GARRETT; REZENDE; IFA, 2013), azeite de oliva extra-virgem (MAZZOTTI *et al.*, 2013), bebidas energéticas (SNEHA; DULAY; ZARE, 2017), entre outras.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, D. J.; REZENDE, H. C.; OLIVEIRA, E. L.; ALMEIDA I. L. S.; COELHO, N. M. M; MATOSA T. N.; ARAÚJO, S. T. Characterization of Pequi (*Caryocar brasiliense*) Shells and Evaluation of Their Potential for the Adsorption of Pb(II) ions in Aqueous Systems. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 3, 2016.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARROZI, A. P.; WAN NGAH, W. Z.; YUSOF, Y. A. M.; DAMANHURI, H.; MAKPOL, S. Antioxidant modulation in restoring mitochondrial function in neurodegeneration. **International Journal of Neuroscience**, v. 127, n. 3, p. 218–235, 2017.

BANERJEE, J.; SINGH, R.; VIJAYARAGHAVAN, R.; MACFARLANE, D.; PATTI, A. F.; ARORA, A. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. **Food Chemistry**, v. 225, p. 10–22, 2017.

BARROS, M.; ZAMBERLAN, C.; GEHLEN, M. H.; ROSA, P. H.; ILHA, S. Awareness raising workshop for nursing students on the elderly with Alzheimer's disease: contributions to education. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 73, n. 3, 2020.

BATISTA, K. S.; ALVES, A. F.; LIMA, M. S.; DA SILVA, L. A.; LINS, P. P.; SOUSA GOMES, J. A.; SILVA, A. S.; TOSCANO, L. T., ALBUQUERQUE MEIRELES, B. R. L.; MAGALHÃES CORDEIRO, A. M. T.; CONCEIÇÃO, M. L.; SOUZA, E. L.; AQUINO, J. S. Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. **British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 1, p. 30–41, 2018.

BIAZOTTO, K. R.; SOUZA MESQUITA, L. M.; NEVES, B. V.; BRAGA, A. R. C.; TANGERINA, M. M. P.; VILEGAS, W.; MERCADANTE, A. Z.; ROSSO, V. V. Brazilian Biodiversity Fruits: Discovering Bioactive Compounds from Underexplored Sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1860–1876, 2019.

BICAS, J. L.; MOLINA, G.; DIONÍSIO, A. P.; BARROS, F. F. C.; WAGNER, R.; MARÓSTICA JR, M. R.; PASTORE, G. M. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 1843-1855, 2011.

BOGUSZ JUNIOR, S.; TAVARES, A. M.; ZINI, C. A.; GODOY, H. T. Optimization of the extraction conditions of the volatile compounds from chili peppers by headspace solid phase micro-extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 21, p. 3345–3350. 2011.

BOGUSZ JUNIOR, S.; TAVARES, A. M.; FILHO, J. T.; ZINI, C. A.; GODOY, H. T. Analysis of the volatile compounds of Brazilian chilli peppers (*Capsicum spp.*) at two stages of maturity by solid phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 98–107, 2012.

BOUAYED, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, v. 128, p. 14–21, 2011.

BRASIL, Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. **Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas**. Relatório de Pesquisa, Brasília, 2012.

BREDA, C. A.; GASPERINI, A. M.; GARCIA, V. L.; MONTEIRO, K. M.; BATAGLION, G. A.; EBERLIN, M. N.; DUARTE, M. C. T. Phytochemical Analysis and Antifungal Activity of Extracts from Leaves and Fruit Residues of

Brazilian Savanna Plants Aiming Its Use as Safe Fungicides. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 6, n. 4, p. 195–204, 2016.

CAMPELO, F. A.; HENRIQUES, G. S.; SIMEONE, M. L. F.; QUEIROZ, V. A. V.; SILVA M. R., AUGUSTI, R., MELO, J. O. F.; LACERDA I. C. A.; ARAÚJO, R. L. B.. Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 788-802, 2020.

CANUTO, K. M.; GARRUTI, D. S.; MAGALHÃES, H. C. R. **Microextração em fase sólida: Método Analítico prático para extração de compostos voláteis de frutas**. Comunicado Técnico, 166, p. 1-5, 2011.

CHEN, J.; YANG, J.; MA, L.; LI, J.; SHAHZAD, N.; KIM, C. K. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

COLOVIC, M. B.; KRSTIC, D. Z.; LAZAREVIC-PASTI, T. D.; BONDZIC, A. M.; VASIC, V. M. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. **Current Neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p. 315–335, 2013.

DENG, J.; YANG, Y. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bansha herbal tea using paper spray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 785, p. 82-90, 2013.

DI MEO, S.; VENDITTI, P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1–32, 2020.

DI DONNA L; TAVERNA D; INDELICATO S; NAPOLI A; SINDONA G; MAZZOTTI F. Rapid assay of resveratrol in red wine by paper spray tandem mass spectrometry and isotope dilution. **Food Chemistry**, v. 229, p. 354-357, 2017.

EVARD, H.; KRUIVE, A.; LÖHMUS, R.; LEITO, I. Paper spray ionization mass spectrometry: Study of a method for fast-screening analysis of pesticides in fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 221-225, 2005.

FANG, L.; CHEN, M.; LIU, Z.; FANG, X.; GOU, S.; CHEN, L. Ferulic acid–carbazole hybrid compounds: Combination of cholinesterase inhibition, antioxidant and neuroprotection as multifunctional anti-Alzheimer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 24, p. 886–893, 2016.

FANG, J.; ZHAO, H.; ZHANG, Y.; LU, M.; CAI, Z. Atmospheric pressure chemical ionization in gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of persistent organic pollutants. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 25, 2020.

FERREIRA, D. F.; GARRUTI, D. S.; BARIN, J. S.; CICHOSKI, A. J.; WAGNER, R. J. Characterization of odor-active compounds in gabioba fruits (*Campomanesia xanthocarpa* o. berg). **Food Quality**, v. 39, p. 90-97, 2016.

FERRERES, F.; GROSSO, C.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; MOTA, A. T.; ANDRADE, P. B. Optimization of the recovery of high-value compounds from pitaya fruit by-products using microwave-assisted extraction. **Food Chemistry**, v. 230, p. 463–474, 2017.

FRATINI, G.; LOIS, S.; PAZOS, M.; PARISI, G.; MEDINA, I. Volatile profile of Atlantic shellfish species by HS-SPME GC/MS. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 856–865, 2012.

GAM, D. H.; KIM, S. Y.; KIM, J. W. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Condition for Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, and Epigallocatechin Gallate in Lipid-Extracted Microalgae. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 454, 2020.

GARCIA, Y.; RUFINI, J.; CAMPOS, M.; GUEDES, M.; AUGUSTI, R.; MELO, J. . SPME Fiber Evaluation for Volatile Organic Compounds Extraction from Acerola. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 2, 2018.

GARRETT, R.; REZENDE, C. M.; IFA, D. R. Coffee origin discrimination by paper spray mass spectrometry and direct coffee spray analysis. **Analytical Methods**, v. 5, p. 5944-5948, 2013.

GE, L.; LI, S.-P.; LISAK, G. Advanced sensing technologies of phenolic compounds for pharmaceutical and biomedical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 179, 2020.

GRANATO, D.; SHAHIDI, F.; WROLSTAD, R.; KILMARTIN, P.; MELTON, L. D.; HIDALGO, F. J.; MIYASHITA, K.; CAMP, J.; VAN, ALASALVAR, C.; ISMAIL, A. B.; ELMORE, S.; BIRCH, G. G.; CHARALAMPOPOULOS, D.; ASTLEY, S. B.; PEGG, R.; ZHOU, P.; FINGLAS, P. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban *in vitro* screening methods?. **Food Chemistry**, v. 264, p. 471–475, 2018.

GUEDES, M. N. S.; RUFINI, J. C. M.; MARQUES, T. R.; MELO, J. O. F.; RAMOS, M. C. P.; VIOL, R. E. Minerals and phenolic compounds of cagaita fruits at different maturation stages (*Eugenia dysenterica*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. 1-9, 2017.

HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 2012.

HASSAN, H. A.; ALLAM, A. E.; ABU-BAIH, D. H.; MOHAMED, M. F. A.; ABDELMOHSEN, U. R.; SHIMIZU, K.; DESOUKEY, S. Y.; HAYALLAH, A. M.; ELREHANY, M. A.; MOHAMED K. M.; KAMEL, M. S. Isolation and characterization of novel acetylcholinesterase inhibitors from *Ficus benghalensis* L. leaves. **RSC Advances**, v. 10, n. 60, p. 36920–36929, 2020.

HUANG, L.-K.; CHAO, S.-P.; HU, C.-J.. Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease. **Journal of Biomedical Science**, v. 27, n. 1, 2020.

INFANTE, J.; SELANI, M. M.; TOLEDO, N. M. V.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.;ALENCAR, S. M.; SPOTO, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food and Nutrition.**, v. 24, n. 1, p. 87-91, 2013.

JAMSHIDI-KIA, F.; WIBOWO, J. P.; ELACHOURI, M.; MASUMI, R.; SALEHIFARD-JOUNEGHANI, A.; ABOLHASANZADEH, Z.; LORIGOOINI, Z. Battle between plants as antioxidants with free radicals in human body. **Journal of Herbmed Pharmacology**, v. 9, n. 3, p. 191–199, 2020.

JURISH, M. **Espectrometria de Massas com Ionização Paper Spray: Uma nova abordagem na solução de problemas forenses**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

KHOCHAPONG, W.; KETNAWA, S.; OGAWA, Y.; PUNBUSAYAKUL, N. Effect of in vitro digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica L.*) pulp aqueous extract. **Food Chemistry**, v. 348, 2021.

KOWALSKA, H.; CZAJKOWSKA, K.; CICHOWSKA, J.; LENART, A. What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67, p. 150–159, 2017.

LEÃO, D. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BASTOS, R.; COIMBRA, M. A. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146–153, 2017.

LI, XIA.; WANG, T.; ZHOU, B.; GAO, W.; CAO, J.; HUANG, L. Chemical composition and antioxidant and anti-inflammatory potential of peels and flesh

from 10 different pear varieties (*Pyrus spp.*). **Food Chemistry**, v. 152, p. 531–538, 2014.

LIMA, C. M. G.; SANTOS, J. D. J.; MIRANDO, R. F.; VIANA, R. B. B.; SANTOS, M. S.; BARBOSA, E. A. Aceitabilidade de geleia de pimenta dedo-de-moça com pectina da casca do pequi. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 6, p. 0786–0791, 2017.

LIN, D.; XIAO, M.; ZHAO, J.; LI, Z.; XING, B.; LI, X.; KONG, M., LI, L.; ZHANG, Q.; LIU, Y.; CHEN, H.; QIN, W.; WU, H.; CHEN, S. An overview of plant 32 phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. **Molecules**, v. 21, n. 10, 2016.

MACHADO, A. P. D. F.; PEREIRA, A. L. D.; BARBERO, G. F.; MARTINEZ, J. Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. **Food Chemistry**, v. 231, p. 1–10. 2017.

MAZZOTTI, F.; DONNA, L.; TAVERNA, D.; NARDI, M.; AIELLO, D.; NAPOLI, A.; SINDONA, G. Evaluation of dialdehydic anti-inflammatory active principles in extra-virgin olive oil by reactive paper spray mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 352, p. 87-91, 2013

MESQUITA, P. R. R.; NUNES, E. C.; SANTOS, F. N.; BASTOS, L. P.; COSTA, M. A. P. C.; RODRIGUES, F. M.; ANDRADE, J. B. Discrimination of *Eugenia uniflora* L. biotypes based on volatile compounds in leaves using HS-SPME/GC–MS and chemometric analysis. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 79-87, 2017.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER, L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; M'ENARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R.

P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, S. J.; WEITSCHIEST, W.; BRODKORB, A. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. **Food & Function**, v. 5, p. 1113–1124, 2014.

MONTEIRO, S. S.; SILVA, R. R.; MARTINS, S. C.; BARIN, J. S., ROSA, C. S. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts of pequi peel (*Caryocar brasiliense* Camb.). **International Food Research Journal**, v. 22, p. 1985–1992, 2015.

MONTEIRO, S. A., BARBOSA, M. M., MAIA DA SILVA, F. F., BEZERRA, R. F., & DA SILVA MAIA, K. Preparation, phytochemical and bromatological evaluation of flour obtained from the acerola (*Malpighia puniceifolia*) agroindustrial residue with potential use as fiber source. **LWT**, v. 134, 2020.

MOSELE, J. I.; MACIÀ, A.; ROMERO, M. P.; MOTILVA, M. J. Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) 33 under *in vitro* digestion and colonic Fermentation. **Food Chemistry**, v. 201, p. 120–130, 2016.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R. DO; NAVES, M. M. V. Potential of Whole Pequi (*Caryocar spp.*) Fruit-Pulp, Almond, Oil, and Shell—as a Medicinal Food. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 9, p. 952–962, 2019.

NASCIMENTO-SILVA, N.; MENDES, N.; SILVA, F. Nutritional composition and total phenolic compounds content of pequi pulp (*Caryocar brasiliense* Cambess.). **Journal of Bioenergy And Food Science**, v. 07, 2020

NHIRI, M.; BEN MRID, R.; BOUARGALNE, Y.; EL OMARI, R. New insights into the therapeutic effects of phenolic acids from sorghum seeds. **Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 1, p. 91, 2019.

OLIVEIRA, F. C.; MARQUES, T. R.; MACHADO, G. H. A.; CARVALHO, T. C. L.; CAETANO, A. A.; BATISTA, L. R.; CORRÊA, A. D. Jabuticaba skin extracts:



phenolic compounds and antibacterial activity. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

PELLEGRINI, M.; LUCAS-GONZALEZ, R.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; RICCI, A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; LO STERZO, C.; VIUDA-MARTOS, M. Bioaccessibility of polyphenolic compounds of six quinoa seeds during *in vitro* gastrointestinal digestion. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 77–88, 2017.

PEREIRA, I.; RODRIGUES, S.M.; CARVALHO, T.D.; CARVALHO, V.V.; LOBÓN, G.S.; BASSANE, J.F.; DOMINGOS, E.; ROMÃO, W.; AUGUSTI, R.; VAZ, B.G. Rapid screening of agrochemicals by paper spray ionization and leaf spray mass spectrometry: which technique is more appropriate? **Analytical Methods**, v. 8, p. 6023-6029, 2016.

PEREIRA H.V.; AMADOR V.S.; SENA M.M.; AUGUSTI R.; PICCIN E. Paper spray mass spectrometry and PLS-DA improved by variable selection for the forensic discrimination of beers. **Analytica Chimica Acta**, v. 940, p. 104-112, 2016

PINTO, L. C. L.; MORAIS, L. M. O.; GUIMARÃES, A. Q.; ALMADA, E. D.; BARBOSA, P. M.; DRUMOND, M. A. Traditional knowledge and uses of the *Caryocar brasiliense* Cambess. (Pequi) by “quilombolas” of Minas Gerais, Brazil: subsidies for sustainable management. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 511–519, 2016.

RIBEIRO, D. M. **Propriedades físicas, químicas e bioquímicas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) de diferentes regiões do cerrado**. 2011. 64 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana)-Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

RIBEIRO, M. R. G. M. **Influência do processo digestivo na atividade antioxidante de alimentos funcionais**. 2016. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2016.

RIGUEIRA, J. A. **Pequi: cultivo, caracterização físico-química e processamento**. 2003. 62 f. Monografia (Especialização em Qualidade de alimentos) – Centro de Excelência em Turismo, Faculdade de Brasília, Brasília, 2003.

ROCHA, R. F. J.; ARAÚJO, I. M. S.; FREITAS, S. M.; GARRUTI, D. S. Optimization of headspace solid phase micro-extraction of volatile compounds from papaya fruit assisted by GC–olfactometry. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 12, p. 4042-4050, 2017.

RODRIGUES, L. J.; FERREIRA DE PAULA, N. R.; PINTO, D. M.; VILAS BOAS, E. V. B. Growth and maturation of pequi fruit of the Brazilian cerrado. **Journal of Food Science and Technology**, v.35, p.11-17, 2015.

ROSA, M.; FILHO, M.; FIGUEIRÊDO, M.; SARAIVA MORAIS, J.; SANTAELLA, S.; LEITÃO, R. Valorização de resíduos da agroindústria. **Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 1, p. 91, 2011.

SADH, P. K.; DUHAN, S.; DUHAN, J. S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, n. 1, 2018.

SANCHO, S. O.; DA SILVA, A. R. A.; DANTAS, A. N. S.; MAGALHÃES, T. A.; LOPES, G. S.; RODRIGUES, S.; DA COSTA, J. M. C.; FERNANDES, F. A. N.; SILVA, M. G. de V. Characterization of the Industrial Residues of Seven Fruits and Prospection of Their Potential Application as Food Supplements. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1–8, 2015.

SANTANA, K. L.; GALVÃO, M. S.; JESUS, M. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. HS-SPME optimization and extraction of volatile compounds from soursop (*Annona muricata L.*) pulp with emphasis on their characteristic impact compounds. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 250–260, 2017.

SANTIAGO, G. L.; OLIVEIRA, I. G.; HORST M. A.; NAVES M. M. V.; SILVA, M. R. Peel and pulp of baru (*Dipteryx Alata Vog.*) provide high fiber, phenolic content and antioxidant capacity. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 244-249, 2018.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757-781, 2015.

SILVA, C. A. A.; FONSECA, G. G. Brazilian savannah fruits: Characteristics, properties, and potential applications. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 1225-1232, 2016.

SILVA, A. C.; SILVA, E. M. S.; SILVA, T. C.; ALVES, B. E. Apatite microflotation using pequi oil. **Mineral Processing and Extractive Metallurgy**, v. 124, n. 4, p. 233–239, 2015.

SILVA, M.; FREITAS, L.G.; SOUZA, A.G.; ARAÚJO, R.L.; LACERDA, I.C.; PEREIRA, H. V.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 1034-1044, 2019

SILVA, N. A.; RODRIGUES, E.; MERCADANTE, A. Z.; ROSSO, V. V. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 5072-5084, 2014.

SNEHA, A.; DULAY, M.; ZARE, R. Introducing mass spectrometry to first-year undergraduates : Analysis of caffeine and other components in energy drinks using paper-spray mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry** ,v. 418, p. 156-161, 2017.

SOARES JÚNIOR, M. S.; BASSINELLO, P. Z.; CALIARI, M.; REIS, R. C. dos; LACERDA, D. B. C. L.; KOAKUZU, S. N. . Development and chemical

characterization of flour obtained from the external mesocarp of “pequi” fruit. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 940–948, 2016.

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

SOUZA, M. R.; DE CARVALHO, R. K.; DE CARVALHO, L. S.; DE SÁ, S.; ANDERSEN, M. L.; DE ARAÚJO, E. G.; MAZARO-COSTA, R. Effects of subchronic exposure to *Caryocar brasiliense* peel ethanolic extract on male reproductive functions in Swiss mice. **Reproductive Toxicology**, v. 87, p. 118–124, 2019.

TEODORO, J.A.; PEREIRA, H.V.; SENA, M.; PICCIN, E.; ZACCA, J.J.; AUGUSTI, R. Paper spray mass spectrometry and chemometric tools for a fast and reliable identification of counterfeit blended Scottish whiskies. **Food chemistry**, v. 237, p. 1058-1064, 2017.

THAKUR, N.; RAIGOND, P.; SINGH, Y.; MISHRA, T.; SINGH, B.; LAL, M. K.; DUTT, S. Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 366–380, 2020.

TORRES, L. R. O.; SANTANA F. C.; SHINAGAWA, F. B.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and functional potential of pequi (*Caryocar spp.*), a native Brazilian fruit: a review. **Grasas y Aceites**, v. 69, n. 2, p. 257, 2018.

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 301-304, 2003.

UDEH, H. O.; DUODU, K. G.; JIDEANI, A. I. Finger Millet Bioactive Compounds, Bioaccessibility, and Potential Health Effects – a Review. 2017. **Czech Journal of Food Science**, v. 35, p. 7–17, 2017.

VIEIRA, T. S. **Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do mal de Alzheimer**. 2007. 100 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

VITAL, A. C. P.; SANTOS, N. W.; MATUMOTO-PINTRO, P. T.; DA SILVA SCAPIM, M. R.; MADRONA, G. S. Ice cream supplemented with grape juice residue as a source of antioxidants. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, n. 1, p. 183–189, 2017.

WANG, H.; LIU, J.; COOKS, R. G.; OUYANG, Z. Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, p. 877-880, 2010.

WANG, T.; LI, Q.; BI, K. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. 2018. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 12–23, 2018.

XIANG, J.; APEA-BAH, F. B.; NDOLO, V. U.; KATUNDU, M. C.; BETA, T. Profile of phenolic compounds and antioxidant activity of finger millet varieties. **Food Chemistry**, v. 275, p. 361–368, 2019.

XU, C.-H.; CHEN, G.-S.; XIONG, Z.-H.; FAN, Y.-X.; WANG, X.-C.; LIU, Y. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 12–29, 2016.

YATES, K.; POHL, F.; BUSCH, M.; MOZER, A.; WATTERS, L.; SHIRYAEV, A.; KONG THOO LIN, P. Determination of sinapine in rapeseed pomace extract: Its antioxidant and acetylcholinesterase inhibition properties. **Food Chemistry**, v. 276, p. 768–775, 2019.

ZACARONI, L. M.; de SALES, P. F.; CARDOSO, M. das G.; SANTIAGO, W. D.; NELSON, D. L. Response surface optimization of SPME extraction conditions for the analysis of volatile compounds in Brazilian sugar cane spirits by HS-

SPME-GC-MS. 2017. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 2, p. 226–231, 2017.

ZHOU, Y.; ZHENG, J.; LI, Y.; XU, D.-P.; LI, S.; CHEN, Y.-M.; LI, H.-B. . Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. **Nutrients**, v. 8, n. 8, p. 515, 2016.

## PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental dessa tese foi dividida em dois capítulos. No primeiro capítulo foi realizada a otimização das condições de extração dos compostos orgânicos voláteis do pericarpo de pequi utilizando o método HS-SPME. Foram avaliados os parâmetros: tipo de fibra (DVB/CAR/PDMS e PDMS/DVB), velocidade de agitação (0, 50 e 100 rpm), temperatura (25, 45 e 65 ° C) e tempo (20, 30 e 40 min) de extração.

No segundo capítulo foram preparadas farinhas a partir do pericarpo de pequi proveniente de três municípios de Minas Gerais (Sete Lagoas, Paraopeba e Felixlândia). Foi utilizado um pool das farinhas de cada município (n = 3 amostras) para determinar a composição centesimal, a atividade anticolinesterásica e verificar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos totais e as alterações na atividade antioxidante dessas amostras após o processo de digestibilidade *in vitro*, empregando três métodos (ABTS, DPPH e FRAP). Além disso, foi utilizado o método PS-MS para caracterizar o perfil químico das farinhas de pericarpo de pequi dos três municípios (n = 15 amostras). A análise de componentes principais também foi usada para diferenciar os *fingerprints* obtidos das farinhas.

#### 4. CAPÍTULO I

**Otimização das condições de extração dos compostos voláteis da casca de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) utilizando HS-SPME**

#### **PRODUÇÃO CIENTÍFICA**

SANTOS, B. O.; AUGUSTI, R.; MELO, J. F. O.; TAKAHASHI, J. A.; ARAÚJO, R. L. B. Otimização das condições de extração dos compostos voláteis da casca de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) utilizando HS-SPME. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, 2020.



**Otimização das condições de extração dos compostos voláteis da casca de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) utilizando HS-SPME**

**Bárbara Oliveira Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0656-2608>

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: [barbara\\_oliveira\\_s@hotmail.com](mailto:barbara_oliveira_s@hotmail.com)

**Rodinei Augusti**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9448-9518>

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: [augusti.rodinei@gmail.com](mailto:augusti.rodinei@gmail.com)

**Júlio Onésio Ferreira Melo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7483-0942>

Universidade Federal de São João del-Rei, Brasil

E-mail: [onesiomelo@gmail.com](mailto:onesiomelo@gmail.com)

**Jacqueline Aparecida Takahashi**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8831-1609>

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: [jat.qui@ufmg.br](mailto:jat.qui@ufmg.br)

**Raquel Linhares Bello de Araújo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5110-5203>

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: [raquel@bromatologiaufmg.com.br](mailto:raquel@bromatologiaufmg.com.br)

**Resumo**

O pequi é uma espécie nativa do cerrado brasileiro que possui importância econômica para a população da região. Seu pericarpo é considerado um resíduo agroindustrial, apesar de corresponder a aproximadamente 80% da massa total do fruto. Informações sobre a sua composição química permitirão uma melhor utilização dessa porção do fruto. O objetivo deste estudo foi avaliar e identificar as melhores condições de extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) presentes no pericarpo de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*), empregando-se o método de microextração em fase sólida por *headspace* (HS-SPME). A extração foi realizada utilizando dois tipos de fibras de microextração

em fase sólida (SPME) e foram avaliados parâmetros como temperatura de extração (25, 45 e 65 °C), tempo de extração (20, 30 e 40 minutos) e agitação (0, 50 e 100 rpm). A fibra de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB) foi estatisticamente mais eficiente que a fibra de divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), permitindo a extração de 23 compostos. A utilização dessas fibras SPME possibilitou a extração e identificação de 35 compostos presentes no pericarpo de pequi, principalmente terpenos (65,71%) e ésteres (14,29%). Um aumento na temperatura e tempo de extração permitiu maior extração dos compostos voláteis pelas duas fibras. Entretanto, em relação à agitação, a melhor condição para o uso da fibra DVB/CAR/PDMS foi a 100 rpm, enquanto a agitação não foi necessária para uma extração eficiente usando a fibra PDMS/DVB.

**Palavras-chave:** Pericarpo de pequi; Resíduo agroindustrial; Microextração em fase sólida em *headspace*; Compostos orgânicos voláteis.

## 1 Introdução

O Cerrado brasileiro é um dos maiores e mais importantes biomas da América do Sul, principalmente por sua grande variedade de climas e solos e rica biodiversidade de fauna e flora. Esse bioma possui várias espécies nativas com características peculiares, formas variadas, cores atraentes e sabores incomuns, com grande potencial para usos agrícolas e tecnológicos. As frutas são nutritivas e comumente utilizadas na dieta popular, sendo geralmente consumidas crus ou na forma de suco, licor, sorvete, geleia e outros tipos de doces (Ribeiro, et al., 2014; Silva & Fonseca, 2016).

Dentre os vários frutos nativos do cerrado, destaca-se o pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*), que é tipicamente cultivado nas regiões sudeste, nordeste e centro do Brasil e constitui uma importante fonte de alimentação e renda para os residentes da região do Cerrado (Machado, et al., 2015; Monteiro, et al., 2015). Este fruto é composto pelo endocarpo (porção comestível do fruto), pericarpo (casca) e semente. O endocarpo e o pericarpo são ricos em fibra alimentar, carotenoides e polifenóis associados a uma elevada capacidade antioxidante (Amorim, et al., 2016; Pinheiro, et al., 2018; Ribeiro, et al., 2014).

Como a parte comestível do pequi é o endocarpo, o pericarpo, que corresponde a aproximadamente 80% da massa total do fruto, torna-se um resíduo agroindustrial e costuma ser descartado durante o processamento do pequi. As informações sobre a composição química do pericarpo são bastante escassas e sua adequada caracterização pode fornecer informações valiosas para permitir o melhor aproveitamento desse resíduo (Leão, et al., 2017).

As características, aroma e sabor, são alguns dos critérios de qualidade mais importantes para os frutos e seus subprodutos, sendo decisivos na seleção, aceitação e ingestão alimentar (Ferreira, et al., 2016; Queiroga, et al., 2005). Essas características são formadas por uma mistura de COVs, principalmente ésteres, aldeídos, álcoois e terpenos (García, et al., 2019), que são muito importantes para a indústria para utilização no desenvolvimento de diversos produtos alimentícios (Bicas *et al.*, 2011). Muitos métodos de extração têm sido usados para obter os compostos voláteis, como *headspace* dinâmico, destilação por arraste de vapor, destilação à vácuo, *purge and trap*, extração por destilação simultânea e HS-SPME (Fratini *et al.*, 2012). A determinação desses compostos pela técnica HS-SPME destaca-se pelo fato de ser simples, necessitar tratamento mínimo da amostra, fornecer alta sensibilidade, não requerer solvente e ter baixo custo (Junior, et al., 2011; Setkova, et al., 2007; Silva, et al., 2019). O método é baseado na extração de analitos usando uma fibra de sílica revestida com uma camada sorvente, com subsequente dessorção térmica dos analitos no sistema cromatográfico (Aguirre-Gonzalez, et al., 2011; Milhome, et al., 2011). A sensibilidade desta técnica depende do tipo de fibra selecionada, agitação da amostra, duração e temperatura da extração, entre outros fatores (Aguirre-Gonzalez, et al., 2011; Silva, et al., 2019; Zacaroni, et al., 2017).

Não há estudos na literatura sobre a otimização das condições de extração de compostos voláteis do pericarpo do pequi pelo método de microextração em fase sólida (SPME), e apenas um estudo sobre o endocarpo do pequi. Belo et al. (2013) realizaram uma otimização do método de extração de compostos voláteis do endocarpo de pequi e avaliaram a capacidade de extração das fibras PDMS/DVB, polidimetilsiloxano (PDMS) e carboxeno/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS). De acordo com os resultados, a

fibra PDMS/DVB apresentou a melhor eficiência para extração dos compostos voláteis.

Nesse contexto, o objetivo do estudo foi determinar as melhores condições para maximizar a extração dos compostos orgânicos voláteis do pericarpo de pequi utilizando as fibras DVB/CAR/PDMS e PDMS/DVB analisando as variáveis: agitação, temperatura e tempo de extração.

## **2 Material e métodos**

### **2.1 Material**

Os frutos do pequi maduro (30 kg) foram adquiridos no Centro de Abastecimento de Minas Gerais (CEASA), em Contagem - MG, sendo provenientes de um único produtor de Paraopeba - MG, Brasil, durante a safra de 2018. Os frutos foram transportados em caixas de isopor até o Laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, onde os frutos saudáveis foram selecionados, higienizados e, em seguida, enxaguados. As partes correspondentes ao pericarpo foram retiradas dos frutos, cortadas em pedaços menores com faca de aço inoxidável e homogeneizadas em processador de alimentos (Fast Juice NKS, TKS-445). A amostra homogeneizada foi armazenada em potes de vidro âmbar a -18 °C até o momento da análise.

As fibras semipolares DVB/CAR/PDMS (50 µm) e PDMS/DVB (65 µm) (Sigma-Aldrich, St. Louis, Estados Unidos da América) foram utilizadas para otimizar a extração de COVs do pericarpo do pequi.

### **2.2 Delineamento experimental**

A influência das variáveis dependentes (agitação, temperatura de extração e tempo de extração) foi avaliada por um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> com triplicatas no ponto central para ambas as fibras (Rodrigues & lemma, 2009) (Tabela 1). A soma das áreas dos picos de todos os compostos capturados em cada teste foi utilizada como resposta para otimização dos parâmetros avaliados.

**Tabela 1** - Planejamento fatorial ( $2^3$ ) com triplicatas no ponto central

Experimento	Condições		
	T (°C)	t (min)	A (rpm)
1	25	20	0
2	25	40	0
3	65	40	100
4	25	40	100
5	65	40	0
6	25	20	100
7	65	20	0
8	65	20	100
9	45	30	50
10	45	30	50
11	45	30	50

T: temperatura; °C: graus Celsius; t: tempo; min: minutos; A: agitação; rpm: rotações por minuto.

### 2.3 Extração dos COVs

Para a extração dos COVs, 2,0 g de amostras trituradas de pericarpo de pequi foram pesadas em frascos *headspace*, os quais foram lacrados com lacre de alumínio e septos de borracha. As fibras de SPME foram inseridas nos frascos e expostas ao *headspace* para adsorver as substâncias voláteis extraídas nas diferentes condições. Após o período de extração, as fibras foram inseridas no injetor do cromatógrafo a gás por 5 min para dessorção dos compostos voláteis (Belo, et al., 2013).

### 2.4 Análise por cromatografia gasosa e identificação dos compostos voláteis

Os COVs das amostras do pericarpo do pequi foram analisados em cromatógrafo gasoso (Trace GC Ultra, Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA)

acoplado ao espectrômetro de massas (MS, Polaris Q, Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA), com armadilha de íons, utilizando injetor capilar *split/splitless*, no modo *splitless* (Belo, et al., 2013).

Foi utilizado hélio como gás de arraste com vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>. As condições da análise cromatográfica foram: temperatura do injetor de 250 °C, tempo de dessorção 5 min, temperatura da fonte de íons 200 °C e temperatura da interface 275 °C. Uma coluna capilar HP-5ms (5% fenil e 95% metilpolissiloxano) (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) (Agilent Technologies Inc., Munique, Alemanha) foi usada para separar os COVs. O aquecimento da coluna foi programado a partir de 40 °C, permanecendo por 5 minutos, aquecimento de 2,5 °C min<sup>-1</sup> a 125 °C, em seguida, um aumento de 10 °C min<sup>-1</sup> a 245 °C, temperatura em que a isoterma foi mantida por 3 minutos (Belo, et al., 2013).

A identificação dos constituintes voláteis do pericarpo do pequi foi realizada por meio da comparação entre o espectro de massa obtido por ionização por impacto de elétrons (EI) a 70 eV, em modo *full scan* com faixa de *m/z* de 30 a 400 e o banco de dados do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST). Para confirmação dos compostos voláteis, foi realizada uma comparação com compostos identificados por outros autores (Belo, et al., 2013).

### **3 Resultados e discussão**

Uma análise multivariada foi realizada para avaliar a influência da temperatura, do tempo e da agitação empregados na extração dos COVs presentes nas amostras do pericarpo do pequi, utilizando as fibras DVB/CAR/PDMS e PDMS/DVB. A soma das áreas relativas dos picos de todos os compostos presentes na amostra foi considerada como resposta. A Tabela 2 apresenta a identificação de todos os COVs extraídos das amostras do pericarpo do pequi usando ambas as fibras de SPME.

**Tabela 2** – COVs identificados no pericarpo de pequi utilizando fibras diferentes

No.	Compostos orgânicos voláteis	Fibra SPME	
		DVB/CAR/PDMS	PDMS/DVB
<b>Cetona</b>			
1	1- (2,8,8-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrociclohepta [b] furan-5-il) etanona	X	-
2	(E) -3-metil-4- (1,3,3-trimetil-7-oxabicyclo [4.1.0] heptan-2-il) but-3-en-2-ona	-	X
<b>Álcool</b>			
3	1-decenol	X	-
4	2,3,5,5,8a-pentametil-6,7,8,8a-tetra-hidro-5H-benzo [b] piran-8-ol	X	-
<b>Éster</b>			
5	Octanoato de pentila	X	-
6	Hexanoato de etila	X	X
7	Acetato de 2-ciclohexenil-3-[1- (2-oxopropil) etenil] -2,4,4-trimetil	-	X
8	Salicilato de 2-etilhexila	X	-
9	Ácido hexil salicílico	-	X
<b>Aldeído</b>			
10	(E) -5- (4,5-dimetil-7a-prop-1-en-2-il-2,3,3a, 5,6,7-hexa-hidro-1H-inden-4-il) -3-metilpent-2-enal	X	X
11	Benzeneacetaldeído	-	X
<b>Terpeno</b>			
12	6-canfenol	X	-
13	<i>p</i> -cimeno	X	X
14	<i>γ</i> -terpineno	X	X
15	Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	X	X
16	3-careno	X	-

17	2-ciclohexen-1-ol, 1-metil-4-(1-metiletil)	X	-
18	Acetato de hidrato de <i>trans</i> -sabineno	X	X
19	Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	X	-
20	7,8-desidro-8a-hidroxi-isolongifoleno	X	-
21	Khusimol	X	-
22	1-epi-cubenol	X	-
23	$\alpha$ -cadinol	X	-
24	5-neo-cedranol	X	-
25	3,7-dimetil-1-octanol	X	-
26	1,8-dimetil-8,9-epoxi-4-isopropil-espiro [4,5] decan-7-ona	X	-
27	Ocimeno	-	X
28	Terpinen-4-ol	-	X
29	Azuleneo	-	X
30	4-etenil-4,8,8-trimetil-2-metilidenebiciclo [5.2.0] nonano	-	X
31	7-metoxi-2,2,4,8-tetrametiltriciclo [5.3.1.0 (4,11) undecano	-	X
32	Cubenol	-	X
33	$\alpha$ -muurolol	-	X
34	2,2,8,8-tetrametil-octa-hidro-1H-2,4a-metanonaftalen-9-ol	-	X
<hr/>			
Hidrocarboneto			
<hr/>			
35	1-deceno	X	-
<hr/>			
SPME: microextração em fase sólida;		DVB/CAR/PDMS:	
divinylbenzeno/carboxen/polydimethylsiloxano;		PDMS/DVB:	
polydimethylsiloxano/divinylbenzeno			

A melhor condição experimental foi obtida quando o pericarpo de pequi foi submetido a 65 °C por 40 min, independente da fibra utilizada. Em relação à



agitação, a melhor condição de extração utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS foi alcançada em 100 rpm enquanto a fibra PDMS/DVB funcionou melhor na ausência de agitação.

As fibras semipolares utilizadas promoveram a extração de diversos compostos polares e apolares como cetonas, álcoois, ésteres, hidrocarbonetos, aldeídos e terpenos. A parte mais significativa dos COVs identificados foram terpenos (65,71%) e ésteres (14,29%). Um total de trinta e cinco COVs foram identificados no pericarpo do pequi usando as fibras DVB/CAR/PDMS e PDMS/DVB. Apenas quatro desses compostos (ocimeno,  $\alpha$ -muurolol,  $\alpha$ -cadinol, hexanoato de etila) foram previamente identificados na polpa, semente e folhas de pequi usando diferentes técnicas de extração (Belo, et al., 2013; Cordeiro et al., 2003; Damiani et al., 2009; Maia, et al., 2008; Passos et al., 2003).

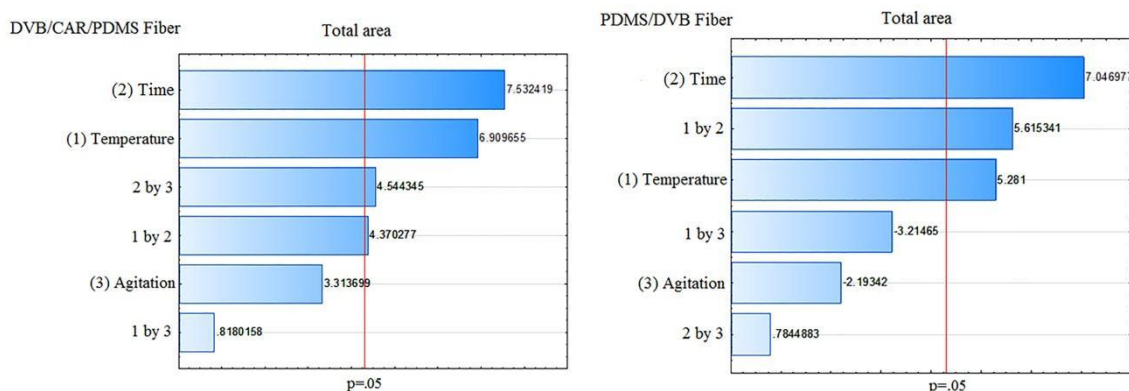
Os dados obtidos indicaram que o octanoato de pentila, salicilato de 2-etilhexila e 1,8-dimetil-8,9-epoxi-4-isopropil-espiro[4,5]decan-7-ona foram os principais compostos voláteis extraídos do pericarpo do pequi pela fibra DVB/CAR/PDMS. Já utilizando a fibra PDMS/DVB, os principais compostos voláteis foram ácido hexilsalicílico e (E)-3-metil-4-(1,3,3-trimetil-7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-il)but-3-en-2-ona.

Para avaliar quais parâmetros tiveram efeito significativo na extração dos compostos voláteis utilizando os dois tipos de fibra, foi construído um gráfico de Pareto com nível de confiança de 95% (Figura 1). O resultado mostra que o tempo e a temperatura de extração tiveram efeito significativo para ambas as fibras avaliadas. O aumento da temperatura (65 °C) e do tempo (40 min) possibilitou maior extração de COVs. Além disso, a interação entre essas duas variáveis também gerou efeito significativo para ambas as fibras, enquanto a interação entre os parâmetros tempo de extração e agitação gerou efeito significativo apenas para a fibra DVB/CAR/PDMS. Não foram encontrados estudos utilizando ferramentas quimiométricas para melhorar a extração de COVs do pericarpo do pequi com esses diferentes tipos de fibras.

Pellati et al. (2005) utilizaram a fibra DVB/CAR/PDMS para extrair COVs de frutos da espécie *Evodia* e também observaram melhor resposta com o aumento da temperatura, conforme demonstrado no presente estudo. Resultado semelhante foi relatado por Silva et al. (2019) que observaram efeito

significativo da temperatura no aumento da extração de COVs da polpa da fruta *Eugenia dysenterica* utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS. Porém, segundo os autores, a agitação e o tempo de extração não mostraram efeito significativo.

**Figura 1** - Influência dos parâmetros na extração de COVs do pericarpo do pequi



Com base na soma da área de todos os picos identificados nos 11 testes realizados para cada fibra, a fibra PDMS/DVB foi estatisticamente mais eficiente que a DVB/CAR/PDMS. Corroborando com o presente estudo, Sánchez Palomo et al. (2005) observaram maior eficiência na extração de COVs de uvas utilizando a fibra PDMS/DVB em comparação com a fibra DVB/CAR/PDMS.

O impacto do revestimento da fibra HS-SPME na extração dos compostos voláteis foi estudado por Bicchi et al. (2000) que mostraram que a seleção do tipo de fibra mais apropriada depende dos compostos alvo e da matriz a ser estudada. Os autores observaram que as fibras compostas pelos componentes líquido (PDMS) e sólido (DVB e/ou CAR) apresentaram maior eficiência na extração de VOCs de frutas tropicais. Segundo Sánchez-Palomo et al. (2005), a fibra PDMS/DVB possui maior sensibilidade para aromáticos de média e baixa volatilidade e, por este motivo, tem sido amplamente utilizada para análises de compostos aromáticos de frutas.

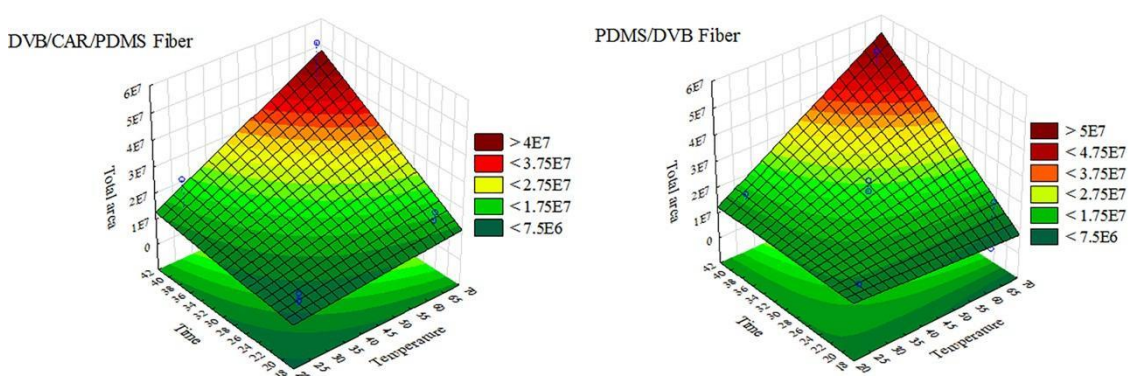
O tipo de revestimento da fibra influencia em relação aos tipos de compostos químicos extraídos por ela. Segundo Silva et al. (2019) o revestimento PDMS tem maior afinidade por compostos apolares, como terpenos e ésteres. No presente estudo, esses grupos químicos também foram

predominantes utilizando os dois tipos de fibras (Tabela 2). Belo et al. (2013) encontraram resultados semelhantes ao extrair os COVs da polpa de pequi a 60 °C por 10 min sem agitação, utilizando a fibra PDMS/DVB. Em seu trabalho, foram isolados setenta e sete COVs da polpa de pequi, predominantemente ésteres, hidrocarbonetos e terpenóides.

Sánchez-Palomo et al. (2005) observaram que o uso da fibra PDMS/DVB para extrair COVs de uvas permitiu maior extração de álcoois, aldeídos, ésteres e compostos benzênicos. Em outro estudo, Pellati et al. (2005) relataram que a fibra DVB/CAR/PDMS extraiu principalmente monoterpenos de frutos da espécie *Evodia*, enquanto a fibra PDMS/DVB apresentou maior capacidade de extração de sesquiterpenos.

Os efeitos da temperatura e do tempo de extração na extração dos compostos voláteis do pericarpo do pequi estão apresentados na Figura 2. A análise do gráfico de superfície de resposta mostra que o uso de alta temperatura (65 °C) associado a maior tempo de extração (40 min) permitiu uma melhor extração de COVs, independentemente da fibra utilizada. Esse resultado pode ser justificado pelo fato da temperatura influenciar os coeficientes de partição dos compostos e aumentar a concentração dos compostos voláteis no *headspace* permitindo maior adsorção pelas fibras (Pellati et al., 2005; Pellati et al., 2013).

**Figura 2** - Influência do tempo e da temperatura de extração na extração de COVs do pericarpo do pequi



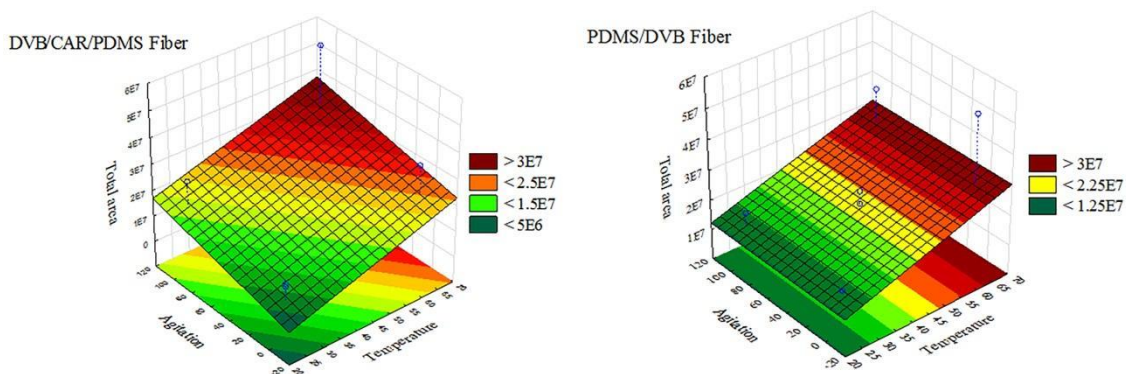
Considerando que não foram encontrados estudos avaliando os efeitos da temperatura e do tempo de extração na extração dos compostos voláteis de frutos do pequi por HS-SPME, os resultados obtidos foram comparados com

resultados relatados para outras frutas. Silva et al. (2019) também observaram maior extração de COVs da polpa da fruta *Eugenia dysenterica* utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS a uma temperatura de 65 °C por 20 min. Zacaroni et al. (2017) avaliaram a extração de COVs de cachaça e obtiveram resultados semelhantes ao usar a fibra DVB/CAR/PDMS a 45 °C por 50 min.

Em outro estudo, García et al. (2019) observaram que a elevação da temperatura para 65 °C garantiu maior extração de COVs da fruta *Malpighia emarginata* utilizando a fibra PDMS/DVB, assim como no presente estudo. Entretanto, resultado contrário foi obtido pelos autores ao empregar-se a fibra DVB/CAR/PDMS.

Os efeitos da agitação e da temperatura de extração sobre o número de COVs extraídos do pericarpo do pequi estão apresentados na Figura 3. A análise do gráfico de superfície de resposta indica que agitação e a temperatura de extração foram parâmetros que não impactaram significativamente na extração de COVs pelas fibras SPME utilizadas. García et al. (2019) também não encontraram influência significativa da agitação durante a extração dos COVs da fruta *Malpighia emarginata* usando fibras SPME diferentes.

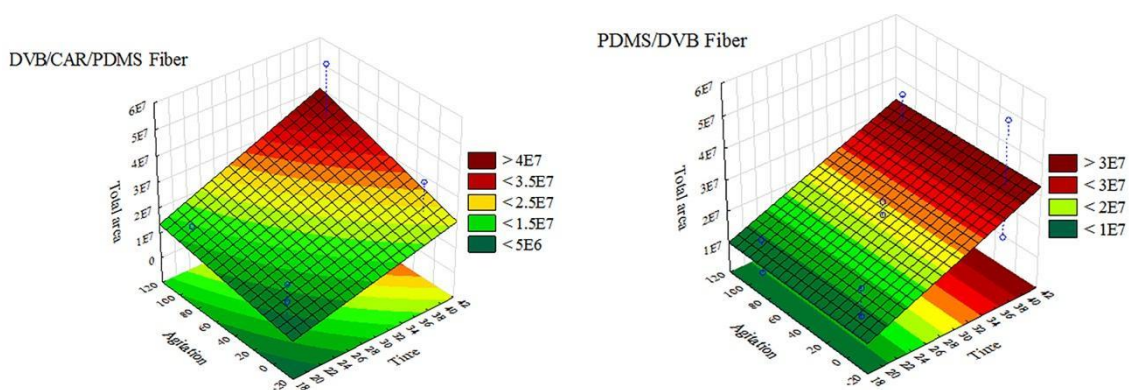
**Figura 3** - Influência da agitação e da temperatura de extração na extração de COVs do pericarpo do pequi



Conforme observado no gráfico de Pareto (Figura 1), a interação entre agitação e tempo de extração não apresentou efeito significativo na extração de COVs utilizando a fibra PDMS/DVB. Quando a fibra DVB/CAR/PDMS foi empregada, o uso mínimo de agitação (50 rpm) e o maior tempo de extração

(40 min) permitiram uma melhor extração de COVs (Figura 4). Silva et al. (2019) encontraram resultados semelhantes na extração de COVs de *Eugenia dysenterica*.

**Figura 4** - Influência da agitação e do tempo de extração na extração de COVs do pericarpo do pequi



#### 4 Conclusão

O uso da análise HS-SPME permitiu a identificação de trinta e cinco compostos voláteis presentes no pericarpo de pequi, principalmente terpenos e ésteres, sendo que a fibra PDMS/DVB foi estatisticamente mais eficiente que a fibra DVB/CAR/PDMS. O uso de elevadas temperaturas (65 °C) por um longo período (40 min) permitiu maior extração de compostos voláteis utilizando ambas as fibras. Em relação à agitação, a melhor condição para o uso da fibra DVB/CAR/PDMS foi a 100 rpm. Já utilizando a fibra PDMS/DVB não foi necessária agitação para uma extração eficiente.

Para trabalhos futuros a respeito da composição dos compostos voláteis do pericarpo do pequi, sugere-se a utilização de fibras HS-SPME com outros tipos de revestimento para permitir a extração e identificação de novos compostos e assim contribuir ainda mais para a caracterização deste resíduo agroindustrial.

#### 5 Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES pelo apoio financeiro.

## Referências

Aguirre-González, M., Taborda-Ocampo, G., Dussan-Lubert, C., Nerin, C. & Rosero-Moreano, M. (2011). Optimization of the HS-SPME Technique by using Response Surface Methodology for Evaluating Chlorine Disinfection by-Products by GC in Drinking Water. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(12), 2330-2336. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011001200013>

Amorim, D. J., Rezende, H. C., Oliveira, E. L., Almeida, I. L. S., Coelho, N. M. M., Matos, T. N. & Araújo, C. S. T. (2016). Characterization of Pequi (*Caryocar brasiliense*) Shells and Evaluation of Their Potential for the Adsorption of Pb<sup>II</sup> Ions in Aqueous Systems. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27(3), 616-623. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150304>

Belo, R. F. C., Augusti, R., Lopes, P. S. N. & Junqueira, R. G. (2013). Characterization and classification of pequi trees (*Caryocar brasiliense* Camb.) based on the profile of volatile constituents using headspace solid-phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry and multivariate analysis. *Food Science and Technology*, 33, 116-124. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000500018>

Bicchi, C., Drigo, S. & Rubiolo, P. (2000). Influence of fibre coating in headspace solid-phase microextraction–gas chromatographic analysis of aromatic and medicinal plants. *Journal of Chromatography A*, 892, 469-485. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00231-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00231-4)

Cordeiro, M. W. S., Cavallieri, A. L. F., Ferri, P. H. & Naves M. M. V. (2013). Características físicas, composição químico-nutricional e dos óleos essenciais da polpa de *Caryocar brasiliense* nativo do estado de mato grosso. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(4), 1127-1139. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400024>

Damiani, C., Vilas Boas, E. V. B., Ferri, P. H., Pinto, D. M. & Rodrigues, L. J. (2009). Volatile compounds profile of fresh-cut peki fruit stored under different

temperatures. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(2), 435-439. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000200032>

Ferreira, D. F., Garruti, D. S., Barin, J. S., Cichoski, A. J. & Wagner, R. J. (2016). Characterization of odor-active compounds in gabioba fruits (*Campomanesia xanthocarpa* o. berg). *Food Quality*, 39, 90-97. <https://doi.org/10.1111/jfq.12177>

Garcia, Y. M. G., Rufini, J. C. M., Campos, M. P., Guedes, M. N. S., Augusti, R. & Melo, J. O. F. (2019). SPME Fiber Evaluation for Volatile Organic Compounds Extraction from Acerola. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30(2), 247-255. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180173>

Junior, S. B., Melo, A. M. T., Zini, C. A. & Godoya, H. T. (2011). Optimization of the extraction conditions of the volatile compounds from chili peppers by headspace solid phase micro-extraction. *Journal of Chromatography A*, 1218, 3345-3350. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.060>

Leão, D. P., Franca, A. S., Oliveira, L. S., Bastos, R. & Coimbra, M. A. (2017). Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. *Food Chemistry*, 225, 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.027>

Machado, M. T. C., Mello, B. C. B. S. & Hubinger, M. D. (2015). Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 304-312. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.10.013>

Maia, J. G. S., Andrade, E. H. A. & Silva, M. H. L. (2008). Aroma volatiles of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 21, 574-576. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.05.006>

Milhorne, A. L., Sousa, P. L. R., Keukeleire, D. & Nascimento, R. F. (2011). Multiresidue Methods for Determination of Pesticides using SPME and SPE Followed by GC-NPD System: a Comparative Study. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(11), 2048-2055. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011001100005>

Monteiro, S. S., Silva, R. R., Martins, S. C., Barin, J. S. & Rosa, C. S. (2015). Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts of pequi peel (*Caryocar brasiliense* Camb.). *International Food Research Journal*, 22(5), 1985-1992.

Passos, X. S., Castro, A. C. M., Pires, J. S., Garcia, A. C. F., Campos, F. C., Fernandes, O. F. L., Paula, J. R., Ferreira, H. D., Santos, S. C., Ferri, P. H. & Silva, M. R. R. (2003). Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Caryocar brasiliensis*. *Pharmaceutical Biology*, 41(5), 319-324. <https://doi.org/10.1076/phbi.41.5.319.15936>

Pellati, F., Benvenuti, S., Yoshizaki, F., Bertelli, D. & Rossi, M. C. (2005). Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry analysis of the volatile compounds of *Evodia* species fruits. *Journal of Chromatography A*, 1087, 265-273. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.01.060>

Pellati, F., Prencipe, F. P. & Benvenuti, S. (2013). Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography–massspectrometry characterization of propolis volatile compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 84, 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.05.045>

Pinheiro, F. A., Okumura, L. L., Silva, A. F. S., Silva, J. G., Ferreira, L. R., Barcellos, E. S. & Fontes, E. A. F. (2018). Applicability of a Voltammetric Assay Based on the Electroreduction of Oxygen to Evaluate the Antioxidant Capacity of Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) Pulp. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(8), 1653-1662. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180038>.



Queiroga, R. C. R. E., Madruga, M. S., Galvão, M. S. & Costa, R. G. (2005). Otimização das condições de extração de compostos voláteis em leite caprino utilizando a técnica de extração e concentração simultânea. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 64(1), 97-103.

Ribeiro, D. M., Fernandes, D. C., Alves, A. M. & Naves, M. M. V. (2014). Carotenoids are related to the colour and lipid content of the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp from the Brazilian Savanna. *Food Science and Technology*, 34(3), 507-512. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6369>

Rodrigues, M. I. & Iemma A. F. (2009). *Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos*. Campinas, Brazil: Editora Casa do Pão.

Sánchez-Palomo, E., Díaz-Maroto, M. C. & Pérez-Coello, M. S. (2005). Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. *Talanta*. 66, 1152-1157. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.01.015>

Silva, C. A. A. & Fonseca, G. G. (2016). Brazilian savannah fruits: Characteristics, properties, and potential applications. *Food Science and Biotechnology* 25(5), 1225-1232. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2018.09.011>

Silva, M. R., Bueno, G. H., Araújo, R. L. B., Lacerda, I. C. A., Freitas, L. G., Morais, H. A., Augusti, R. & Melo, J. O. F. (2019). Evaluation of the Influence of Extraction Conditions on the Isolation and Identification of Volatile Compounds from Cagaita (*Eugenia dysenterica*) Using HS-SPME/GC-MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30(2), 379-387. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180187>

Setkova, L., Risticvic, S. & Pawliszyn, J. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric method for qualitative profiling of ice wine volatile fraction I. Method development and optimization. *Journal of Chromatography A*, 1147, 213-223. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.058>

Zacaroni, L. M., Sales, P. F., Cardoso, M. G., Santiago, W. D. & Nelson, D. L. (2017). Response surface optimization of SPME extraction conditions for the analysis of volatile compounds in Brazilian sugar cane spirits by HS-SPME-GC-MS. *Journal of the Institute of Brewing*, 123, 226-231. <https://doi.org/10.1002/jib.410>

## 5. CAPÍTULO II

### **Desenvolvimento e caracterização química de farinhas de pericarpo de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) e o efeito da digestibilidade *in vitro* na bioacessibilidade dos compostos fenólicos**

#### **PRODUÇÃO CIENTÍFICA**

MIRANDA, N. D.; SANTOS, B. O.; TAKAHASHI, J. A.; ARAÚJO, R. L. B. Determinação do teor de compostos fenólicos totais de farinhas de pericarpo de pequi. In: XXVIII Semana de Iniciação Científica/PRPq – UFMG. **Anais do XXVIII Semana de Iniciação Científica/PRPq – UFMG**. Belo Horizonte, Editora do evento, v. 1, p. 1-1, 2019.

SANTOS, O. B.; ARAÚJO, R. L. B.; TAKAHASHI, J. A.; MIRANDA, N. D.; FREITAS, L. G. Potencial antioxidante de farinhas de resíduos de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*). In: XXI Encontro Nacional e VII Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos. **Anais do XXI Encontro Nacional e VII Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos**. Florianópolis, Editora do evento, v. 1, p. 1-1, 2019.

SANTOS, O. B.; MIRANDA, N. D.; FREITAS, L. G.; LABANCA, R. A.; TAKAHASHI, J. A.; ARAÚJO, R. L. B. Potencial antioxidante de farinhas de resíduos de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) submetidas à digestão simulada *in vitro*. In: I Congress on Science, Biodiversity and Sustainability. **Anais do I Congress on Science, Biodiversity and Sustainability**, Belo Horizonte, v. 1, p. 1-1, 2019.

TANIGAKI, M. I.; SANTOS, B. O.; MELO, J. O. F.; TAKAHASHI, J. A.; ARAUJO, R. L. B. Emprego da espectrometria de massas por paper spray na análise de produtos de origem vegetal. In: XXIX Semana de Iniciação Científica/PRPq – UFMG. **Anais do XXIX Semana de Iniciação Científica/PRPq – UFMG**. Belo Horizonte, Editora do evento, v. 1, p. 1-1, 2020.

## **Desenvolvimento e caracterização química de farinhas de pericarpo de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) e o efeito da digestibilidade *in vitro* na bioacessibilidade dos compostos fenólicos**

### **Resumo**

O pericarpo de pequi corresponde à maior porção do fruto e apresenta elevado valor nutricional, porém é descartado como um resíduo agroindustrial. O presente estudo teve como objetivo preparar e caracterizar farinhas do pericarpo de pequi quanto à composição centesimal, atividade inibitória da acetilcolinesterase, determinar o perfil químico e seu potencial antioxidante antes e após o processo de digestibilidade *in vitro*, visando o aproveitamento integral deste fruto. Foram analisadas as amostras de farinhas de pericarpo de pequi provenientes dos municípios de Sete Lagoas, Paraopeba e Felixlândia e a composição centesimal e a atividade inibitória da acetilcolinesterase das farinhas foram determinadas. O perfil de compostos químicos presentes nas farinhas foi determinado utilizando espectrometria de massas por *paper spray*. A técnica de digestão simulada *in vitro* foi empregada visando verificar a estabilidade dos compostos fenólicos e a manutenção da atividade antioxidante das amostras. As farinhas do pericarpo de pequi demonstraram apresentar teores superiores de proteínas, cinzas e fibras alimentares, em comparação com os dados descritos na literatura para a polpa do fruto, e foram classificadas como inibidoras potentes da acetilcolinesterase. A análise de espectrometria de massas por *paper spray* permitiu a identificação de 46 compostos químicos incluindo aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos e compostos fenólicos. A análise dos componentes principais demonstrou que não houve variação química entre os frutos provenientes dos municípios estudados. Através da técnica de digestibilidade *in vitro* foi possível observar aumento da bioacessibilidade dos compostos fenólicos contribuindo para elevar ainda mais a já expressiva atividade antioxidante das amostras. Concluiu-se que a farinha do pericarpo de pequi possui potencial para ser utilizada como ingrediente alimentício devido à elevada bioacessibilidade de seus compostos

bioativos, capazes de reduzir o risco de desenvolvimento de doenças causadas pelo estresse oxidativo.

**Palavras-chave:** Resíduo agroindustrial. Pericarpo de pequi. Acetilcolinesterase. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante. Digestibilidade *in vitro*. Paper spray.

## 1. Introdução

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do mundo, possuindo mais de 70% de todas as espécies de fauna e flora existentes atualmente. O pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) é um fruto nativo do cerrado brasileiro cultivado em vários estados das regiões nordeste, sudeste e centro-oeste do país, com produção anual de aproximadamente 27.000 toneladas (IBGE, 2019; LEÃO *et al.*, 2017). Durante o processamento do fruto, o pericarpo (casca) é descartado como resíduo agroindustrial. No entanto, esta parte do fruto apresenta potencial uso na alimentação humana visto que apresenta elevado teor de fibras alimentares, carotenoides e compostos fenólicos com expressiva atividade antioxidante (AMORIM *et al.*, 2016; LEÃO *et al.*, 2017; MONTEIRO *et al.*, 2015). Poucas aplicações para o pericarpo de pequi foram relatadas na literatura até o momento, como a sua utilização no desenvolvimento de pães (COUTO, 2007) e biscoitos (SOARES JÚNIOR *et al.*, 2009), como fonte de pectina de alto teor de metoxilação (LEÃO *et al.*, 2018) e como antimicrobiano em queijos Minas Frescal de cabra reduzidos de sódio (MOREIRA *et al.*, 2019).

Vários estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de caracterizar os resíduos agroindustriais que possuam compostos bioativos importantes para as funções fisiológicas e estabelecer alternativas para a utilização eficiente, econômica e segura dessas matérias orgânicas, em alternativa ao seu descarte. A utilização desses resíduos pode agregar valor aos subprodutos agroindustriais, gerar empregos e, ainda, reduzir a poluição ambiental (HUBER *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2018).

A transformação dos resíduos agroindustriais em coprodutos como farinhas promove a redução da água livre e, conseqüentemente, minimiza as reações químicas e microbiológicas que normalmente ocorrem no alimento *in*

*natura*. Além disso, a redução do teor de água ocasiona a concentração de substâncias como os compostos bioativos, fibras alimentares e minerais, reduz as perdas pós colheita e garante maior facilidade de incorporação em diferentes formulações alimentícias (CELESTINO, 2010; SOQUETTA *et al.*, 2016).

Compostos fenólicos são conhecidos por apresentarem elevada atividade antioxidante e o seu consumo vêm sendo associado à redução do risco de desenvolvimento de doenças como câncer, diabetes e doenças cardiovasculares. Além disso, a redução do estresse oxidativo no organismo humano e a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) pode resultar em redução da progressão de patologias neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (DA) (ARROZI *et al.*, 2017; SINDHI *et al.*, 2013).

Um dos principais fatores limitantes da ação benéfica dos compostos fenólicos no organismo é sua bioacessibilidade, que depende da estabilidade digestiva e da liberação do alimento (TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2010; STANISAVLJEVIC *et al.*, 2015). Estudos indicam que fatores relacionados aos alimentos como as interações com proteínas, lipídeos, carboidratos e fibras alimentares podem interferir na bioacessibilidade dos compostos bioativos (D'ARCHIVIO *et al.*, 2010; TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2010; GULLON *et al.*, 2015b).

Bioacessibilidade é definida como a quantidade de um constituinte alimentar capaz de atravessar a barreira intestinal após sua liberação da matriz alimentar (SAURA-CALIXTO *et al.*, 2007). Pesquisas sobre a bioacessibilidade de polifenóis são importantes, pois somente os compostos liberados dos alimentos são potencialmente biodisponíveis e em condições de exercer efeitos benéficos (TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2010).

Para a caracterização da composição química de alimentos, inclusive farinhas, técnicas analíticas instrumentais como cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), eletroforese capilar (CE) podem ser utilizadas. No entanto, estas técnicas requerem, geralmente, laborioso pré-tratamento das amostras (DENG; YANG, 2013; ZHI-PING; XIAO-NING; YA-JUN, 2014; SILVA *et al.*, 2019) e vem sendo preferidas as técnicas de ionização ambiente, que não demandam pré-tratamento das amostras. Além disso, são mais simples e de baixo custo analítico, possibilitando análises

rápidas e sensíveis em diversas matrizes (TEODORO *et al.*, 2017; ZHI-PING; XIAO-NING; YA-JUN, 2014).

Dentre as técnicas de ionização ambiente, a espectrometria de massas por *paper spray* (PS-MS) tem sido empregada para analisar a composição química de matrizes complexas. Neste método, a amostra é adicionada em um papel cromatográfico triangular juntamente com um solvente e um alto campo elétrico é aplicado para realizar a ionização. Em seguida, ocorre a formação de um *spray* com gotículas carregadas que vão em direção à entrada do espectrômetro de massas para serem analisadas (PEREIRA *et al.*, 2016a). Devido às suas características, a técnica PS-MS tem sido utilizada em estudos de diversas matrizes alimentares como chás (DENG; YANG, 2013), vinho tinto (DONNA *et al.*, 2017), frutas e vegetais (EVARD *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019), grãos (CAMPELO *et al.*, 2019), bebidas alcoólicas (PEREIRA *et al.*, 2016b; TEODORO *et al.*, 2017), café (GARRETT; REZENDE; IFA, 2013), azeite de oliva extra-virgem (MAZZOTTI *et al.*, 2013), bebidas energéticas (SNEHA; DULAY; ZARE, 2017), entre outras.

O objetivo do presente estudo foi desenvolver e caracterizar farinhas preparadas a partir do pericarpo de pequi quanto à composição centesimal e atividade inibitória da acetilcolinesterase, bem como verificar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos e as alterações na atividade antioxidante dessas amostras após o processo de digestibilidade *in vitro*. Além disso, identificar o perfil químico das amostras utilizando PS-MS e diferenciar as farinhas de pericarpo de pequi de três municípios diferentes através da análise dos componentes principais (PCA).

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Reagentes**

Os padrões Folin-Ciocalteu, 2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS), 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox), 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), as enzimas  $\alpha$ -amilase, pepsina porcina, pancreatina e acetilcolinesterase, bile, iodeto de acetilcolina, ácido 5,5'-ditiobis(2-

nitrobenzóico), albumina sérica bovina 0,1% e eserina foram adquiridos da Sigma Aldrich (São Paulo, SP, Brasil). Os reagentes de grau analítico como acetona, metanol e ácido clorídrico foram adquiridos da VETEC (São Paulo, SP, Brasil). A acetonitrila grau HPLC foi adquirida da J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) e o papel cromatográfico da Whatman (Little Chalfont, Buckinghamshire, UK).

## 2.2 Preparo das amostras

Os frutos de pequi maduros foram coletados no chão, durante a safra de 2018, de 15 pequizeiros localizados em três municípios do estado de Minas Gerais (Brasil): Sete Lagoas (Latitude 19° 28' 48" e Longitude 44° 11' 57"), Paraopeba (Latitude 19° 13' 12" e Longitude 44° 26' 38") e Felixlândia (Latitude 19° 9' 32" e Longitude 44° 34' 37"). Após a coleta, os frutos de cada pequizeiro (1,5 kg/pequizeiro) foram acondicionados separadamente em caixas de isopor e transportados para o laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, onde foram inspecionados e aqueles que apresentaram o pericarpo intacto foram selecionados. Em seguida, foram higienizados por enxague com água corrente seguido de sanitização empregando-se solução aquosa de hipoclorito de sódio à 200 mg.L<sup>-1</sup> por 15 min.

Os frutos foram cortados manualmente em seu diâmetro longitudinal, separando-se os endocarpos dos pericarpos e estes últimos foram triturados em processador de alimentos (Fast Juice NKS, TKS-445). Após esta etapa, as amostras trituradas de cada pequizeiro foram transferidas separadamente para bandejas de aço inoxidável e secas em estufa com circulação de ar à 45 °C por aproximadamente 15 horas. Posteriormente, as amostras foram trituradas em moinho de facas (TECNAL TE020) e tamisadas em peneiras de 42 mesh, obtendo-se assim 15 farinhas de pericarpo de pequi (150 g/pequizeiro). Em seguida, 20 g de cada uma das farinhas (n=15) foram acondicionados, separadamente, em sachês metálicos que foram selados e armazenados em freezer à -18 °C até a realização da análise de perfil químico por PS-MS. O restante das farinhas de cada pequizeiro foi homogeneizado formando um *pool* de cada município de coleta (Sete Lagoas, Paraopeba e Felixlândia, n=3), e foi



acondicionado em sachês metálicos, que foram selados e armazenados em freezer à -18 °C até a realização das análises de composição centesimal, atividade inibitória de acetilcolinesterase, compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante.

### **2.3 Composição centesimal**

Os teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e fibras solúveis e insolúveis das farinhas do pericarpo de pequi foram determinados conforme metodologia proposta pela *Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2018)* e o teor de carboidratos disponíveis foi determinado por diferença.

### **2.4 Atividade inibitória de AChE**

A análise da atividade inibitória da acetilcolinesterase foi realizada segundo metodologia proposta por Ellmann (1961), com modificações. Para tal, foram adicionados em cada poço da microplaca 25 µL da amostra dissolvida em sulfóxido de dimetilo (DMSO) ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), 25 µL da solução padrão de iodeto de acetilcolina (ATCI) (15 mM), 125 µL da solução de ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico) (DTNB) (3 mM) e 50 µL da solução tampão Tris/HCl (50 mM) pH 8,0 com albumina sérica bovina a 0,1% (p/v). Em seguida, a absorbância foi mensurada em leitora de microplacas (Multiscan FC) na faixa de 405 nm a cada 1 minuto por 8 vezes (totalizando 8 minutos de leitura). Posteriormente, foram adicionados aos poços da placa 25 µL da solução de acetilcolinesterase ( $0.222 \text{ U.mL}^{-1}$ ). A absorbância foi novamente mensurada a cada 1 minuto por 10 vezes (totalizando 10 minutos de leitura). Foi utilizada solução de Eserina ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) como controle positivo e DMSO como controle negativo. As porcentagens de inibição foram calculadas comparando as velocidades de reação promovida pela amostra com a velocidade de reação do controle (DMSO).

## 2.5 Produção dos extratos

A extração das amostras foi realizada segundo metodologia descrita por Rufino et al. (2010). Foram preparados extratos das farinhas provenientes de cada um dos 15 pequizeiros (n=15) e também dos *pools* de farinhas de cada um dos três municípios (n=3). Para isso, foram pesados 0,25 g de farinha em tubos eppendorf de 2 mL e acrescentado 1 mL de solução de metanol/água (50:50, v/v). Os tubos foram agitados em vórtex por 30 seg e incubados ao abrigo de luz por 1 hora à temperatura ambiente. Posteriormente, foi realizada centrifugação a 25.406 x g por 30 min e os sobrenadantes foram coletados em balões volumétricos de 5 mL. Em seguida, foi adicionado 1 mL de solução de acetona/água (70:30, v/v) ao precipitado, sendo realizada nova incubação e centrifugação. O sobrenadante obtido foi misturado ao anterior e o volume do balão completado com água destilada.

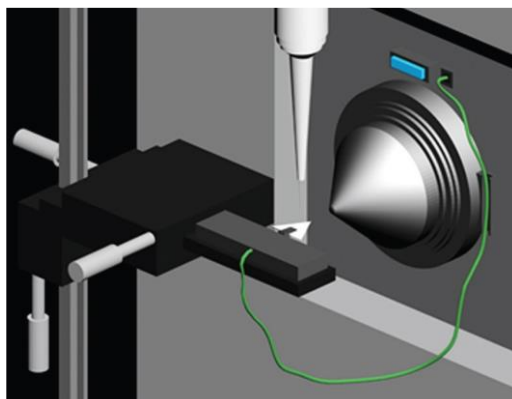
## 2.6 Perfil químico por PS-MS

A análise do perfil químico dos extratos das farinhas provenientes de cada um dos 15 pequizeiros foi realizada segundo metodologia proposta por Silva et al. (2019). Foi utilizado um espectrômetro de massas LCQ *Fleet* (ThermoScientific, São José, CA, EUA) acoplado a uma fonte de ionização em *paper spray* e as análises foram realizadas em triplicata nos modos de ionização positivo e negativo. As condições experimentais foram: faixa de massa: 100 a 1000 m/z; tensão da fonte: 3,0 kV; tensão capilar de 40 V; temperatura do tubo de transferência de 275 °C; voltagem de lentes de tubo de 120 V; distância da ponta do papel cromatográfico à entrada do espectrômetro: 0,5 cm; energia de colisão para fragmentação: 15 a 30 eV.

Para realizar as análises, 2,0 µL dos extratos das amostras foram adicionados no papel cromatográfico (cortado em formato de um triângulo equilátero de 1,5 cm de comprimento lateral) que estava apoiado em um clipe metálico conectado à uma fonte de alta tensão do espectrômetro de massas. Em seguida, 40,0 µL de acetonitrila foram aplicados ao papel cromatográfico e a fonte de tensão foi conectada para aquisição dos dados. Os íons e seus

fragmentos foram utilizados para identificação dos compostos com base nos dados descritos na literatura.

**Figura 1** – Diagrama da fonte de ionização por *paper spray*



Fonte: Silva et al. (2019)

## 2.7 Compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante

Os extratos obtidos dos *pools* de farinhas de cada um dos três municípios foram utilizados para a determinação do teor de compostos fenólicos totais seguindo o método descrito por Singleton et al. (1999) e para a avaliação da atividade antioxidante pelos métodos FRAP e ABTS segundo método sugerido por Rufino et al. (2010) e pelo método DPPH segundo metodologia proposta pela AOAC (2012).

## 2.8 Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* foi realizada segundo metodologia descrita em protocolo padronizado elaborado por Minekus et al. (2014). A análise foi dividida em três etapas sequenciais: fase oral, fase gástrica e fase intestinal. Na fase oral as amostras foram umedecidas com aproximadamente 4 mL de fluido simulado salivar (FSS), adicionadas de 5 mL de  $\alpha$ -amilase (75 U mL<sup>-1</sup> de fluido salivar simulado) e incubadas por 2 min a 37 ± 2 °C em banho maria sob agitação. Na fase gástrica, acrescentou-se 5 mL de pepsina suína (2000 U mL<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> de fluido gástrico simulado), o pH foi ajustado para 3,0 e realizada incubação por 2 horas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  em banho maria sob agitação. Na fase intestinal, houve a adição de 5 mL de pancreatina suína (1000 U/mL de fluido intestinal simulado) e 5 mL de bile bovina (10mM em fluido intestinal simulado), o pH foi ajustado para 7,0 e a mistura incubada por 2 horas a  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$  em banho maria sob agitação. Ao final da fase intestinal, houve uma centrifugação por 30 min a  $2500 \times g$  e o sobrenadante foi coletado para determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de acordo com os métodos supracitados.

## **2.9 Análise estatística**

Os resultados das análises de composição centesimal, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e atividade inibitória de acetilcolinesterase foram submetidos à análise de variância por meio da ANOVA *one way* e do Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para avaliação das médias. Para comparar os resultados dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante das amostras pré e pós digestibilidade *in vitro* foi utilizado o teste T Student ( $p < 0,05$ ). Os espectros de massa foram analisados pelo software Xcalibur e os espectros médios de PS-MS nos modos de ionização positivo e negativo foram determinados utilizando uma planilha do Microsoft Excel 2010. A análise dos componentes principais foi realizada no software MATLAB, com auxílio do PLS Toolbox.

## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1 Composição centesimal**

Os resultados obtidos para a composição centesimal dos pools de farinhas do pericarpo de pequi de cada município estão expressos na Tabela 1.

**Tabela 1** – Composição centesimal das farinhas do pericarpo de pequi em base seca.

Parâmetros (g 100 g <sup>-1</sup> )	Amostras		
	Sete Lagoas	Paraopeba	Felixlândia
Lipídeos	1,42 <sup>a</sup> ± 0,10	1,43 <sup>ab</sup> ± 0,04	1,41 <sup>a</sup> ± 0,11
Proteínas	5,41 <sup>a</sup> ± 0,29	5,21 <sup>a</sup> ± 0,17	5,86 <sup>a</sup> ± 0,30
Cinzas	2,59 <sup>a</sup> ± 0,04	2,58 <sup>a</sup> ± 0,19	3,17 <sup>b</sup> ± 0,31
Fibras insolúveis	44,24 <sup>a</sup> ± 0,06	44,37 <sup>b</sup> ± 0,22	38,00 <sup>ac</sup> ± 0,07
Fibras solúveis	13,08 <sup>a</sup> ± 0,44	13,32 <sup>ab</sup> ± 0,32	14,83 <sup>bc</sup> ± 0,42
Carboidratos disponíveis	33,26	33,09	36,73

Médias seguidas de mesma letra na mesma linha não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ; n=3).

Os teores de umidade dos pools das farinhas de pericarpo de pequi provenientes de Sete Lagoas (8,56%), Paraopeba (7,90%) e Felixlândia (9,37%) diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ). No entanto, todas as amostras encontram-se abaixo do limite máximo de 15% preconizado na legislação brasileira para farinhas (BRASIL, 2005). Os teores de lipídeos encontrados para todas as farinhas foram baixos, o que as torna menos susceptíveis à oxidação lipídica e contribui para melhor conservação das farinhas. Os teores de proteínas não diferiram estatisticamente entre as amostras ( $p > 0,05$ ) e variaram entre 5,21 e 5,86%. Tais resultados corroboram com aqueles relatados por Soares Júnior *et al.* (2010) que indicaram teor de proteínas de 5,59% para farinha de pericarpo de pequi. Os teores de cinzas das amostras ficaram entre 2,58 e 3,17%. Resultados estes, ligeiramente superiores ao obtido por Leão *et al.* (2017) que relataram teor de cinzas de 2,34% para farinhas de pericarpo de pequi. As farinhas de pericarpo de pequi apresentaram elevados teores de fibras alimentares insolúveis que variaram entre 38,00 e 44,37%. Tais resultados foram superiores aos obtidos por Leão *et al.* (2017), utilizando mesma metodologia, que indicaram teores de fibras alimentares insolúveis de 33,94%. Estes autores também relataram teores de fibras alimentares solúveis de 9,38%. Resultados estes, também inferiores aos obtidos no presente estudo (variação de 13,08 a 14,83%).

As fibras alimentares apresentam diversos benefícios para a saúde humana, incluindo a redução dos níveis séricos de colesterol e glicose e redução do risco de desenvolvimento de algumas doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão, diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares, câncer e desordens gastrointestinais. Além disso, as fibras alimentares também atuam na melhora do sistema imunológico (BERNAUD & RODRIGUES, 2013; ZHAO *et al.*, 2018). Considerando as médias estimadas para fibra alimentar total, todas as farinhas obtidas podem ser consideradas ricas em fibras alimentares, visto que a legislação brasileira classifica alimentos com no mínimo 6 % de fibra alimentar total como alimentos ricos em fibras (BRASIL, 2012).

Considerando as médias estimadas para fibra alimentar total, todas as farinhas obtidas podem ser consideradas ricas em fibras alimentares, visto que a legislação brasileira classifica alimentos com no mínimo 6 % de fibra alimentar total como alimentos ricos em fibras (BRASIL, 2012).

Os resultados da composição centesimal demonstraram a superioridade das farinhas do pericarpo de pequi em comparação com a polpa do fruto quanto aos teores de proteínas (1,79%), cinzas (0,61%) e fibras alimentares (5,89%) (SILVA & FONSECA, 2016). Estes resultados demonstram o valor nutricional deste resíduo que pode ser incorporado em diferentes formulações alimentícias, minimizando o desperdício de nutrientes e gerando uma nova fonte alimentar.

### **3.2 Atividade inibitória de acetilcolinesterase**

Os percentuais de inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase dos pools de farinhas do pericarpo de pequi de cada município estão expressos na Tabela 2.

**Tabela 2** - Inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase pelas farinhas do pericarpo de pequi.

Amostras	Inibição da AChE (%)
Eserina	90,55
Sete Lagoas	51,91 <sup>a</sup> ± 5,68
Paraopeba	54,17 <sup>a</sup> ± 4,43
Felixlândia	50,88 <sup>a</sup> ± 11,88

Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste T Student ( $\alpha = 0,05$ ;  $n=3$ ). A eserina foi utilizada como controle positivo para inibição da acetilcolinesterase.

Os inibidores de AChE são utilizados no tratamento sintomático da doença de Alzheimer pelo fato de aumentarem a disponibilidade de acetilcolina produzindo melhora da função cognitiva dos portadores da doença (LANE *et al.*, 2018).

A diversidade estrutural dos inibidores de AChE conhecidos têm estimulado o desenvolvimento de estudos utilizando várias espécies vegetais e micro-organismos, com o intuito de identificar novas fontes de inibidores de AChE (VIEGAS JÚNIOR *et al.*, 2004).

A atividade inibitória da AChE de plantas pode ser classificada de acordo com Vinutha *et al.* (2007) que sugere uma divisão entre inibição potente (> 50%), inibição moderada (30 - 50%) e inibição fraca (< 30%). Segundo esta classificação, todas as farinhas de pericarpo de pequi são consideradas inibidoras potentes de AChE.

Alguns estudos têm demonstrado que diversos polifenóis apresentam atividade inibitória de AChE gerando efeitos neuroprotetores benéficos. Hernandez *et al.* (2010) relataram que os compostos fenólicos rutina, hiperosídeo, ácido clorogênico, isoquercitrina e quercitrina foram os compostos inibidores da AChE em diferentes espécies de *Hypericum*. Estes resultados podem justificar a alta capacidade de inibição das farinhas de pericarpo de pequi, pois estas apresentam elevado teor de compostos fenólicos.

Estudo realizado por Souza (2011) com espécies vegetais do Cerrado demonstrou baixa capacidade inibitória para extratos etanólicos de *Genipa americana* L. (16,37%), *Sapindus saponaria* L. (32,04%) e *Caryocar villosum* (10,36).

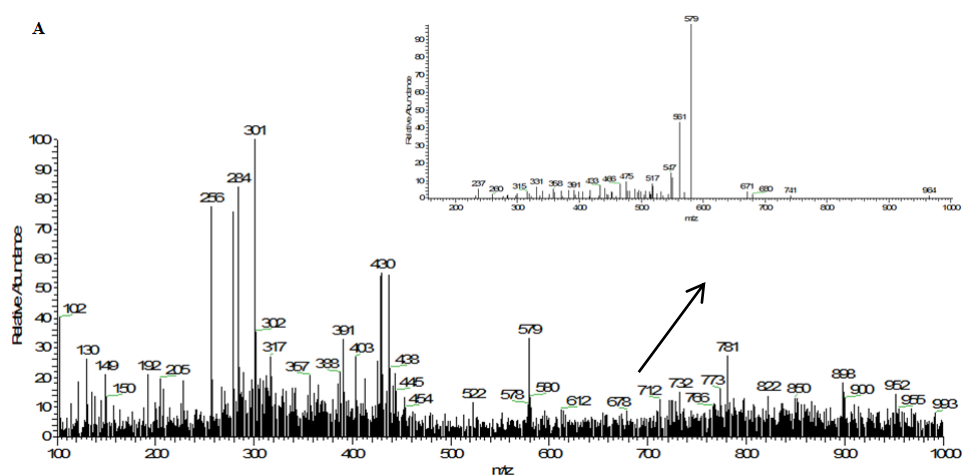
Devido à escassez de dados descritos na literatura abordando o percentual de inibição da atividade de AChE provocado por frutos, os resultados aqui encontrados também foram comparados com os referentes a outras plantas.

Os resultados obtidos no presente estudo foram superiores aos obtidos para extrato metanólico de *Lippia sidoides* (31%) e extrato etanólico de *Croton urucunama* (39%), embora inferiores à inibição causada pelo extrato etanólico de *Paullinia cupana* (65%) (TREVISAN; MACEDO, 2003). Mota et al. (2012) avaliaram a capacidade de inibição da AChE de algumas plantas medicinais e relataram percentuais de inibição de 40% pelo extrato aquoso de *Phoradendron piperoides*, 47% pelo extrato etanólico de *Moringa oleifera* e 74% pelo extrato aquoso de *Vitex agnus-castus* L.

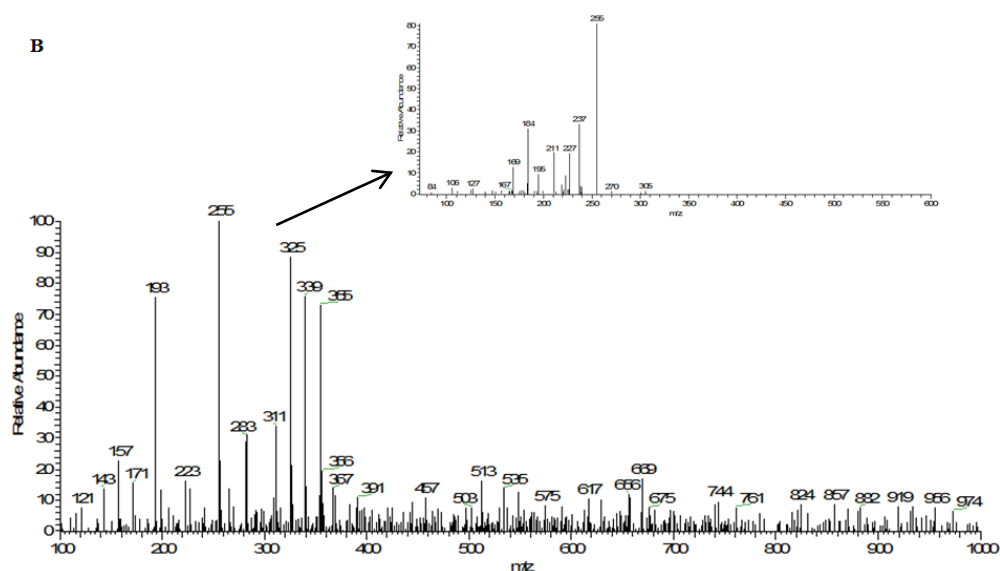
### 3.3 Perfil químico por PS-MS

Exemplos de espectros de PS-MS de extratos de farinhas de pericarpo de pequi nos modos de ionização positivo e negativo analisadas no presente estudo estão apresentados na Figura 2. As substâncias identificadas nas farinhas de pericarpo de pequi provenientes dos 15 pequizeiros foram aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos e diversos tipos de compostos fenólicos.

**Figura 2** - Representação dos espectros (A) (+)PS-MS e (B) (-)PS-MS de uma amostra da farinha de pericarpo de pequi.







### 3.3.1 Fingerprints obtidos no modo de ionização positivo

Os possíveis compostos identificados nos *fingerprints* no (+)PS-MS estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Compostos identificados nas amostras de farinhas de pericarpo de pequi por (+)PS-MS

Identificação proposta	m/z	MS/MS	Referência
L-arginina	175	70, 116, 129	GOGICHAEVA <i>et al.</i> , 2007; OZCAN & SENYUVA, 2006
Crisoeriol	301	286	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2015
Galocatequina	307	289	FRASER <i>et al.</i> , 2016
Rhamnetina	317	165	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2015
Sacarose	365	203	GUO <i>et al.</i> , 2017
Ácido elágico xilosídeo	435	303	LEE <i>et al.</i> , 2005
Delfinidina-3-glicosídeo	465	303	FLORES <i>et al.</i> , 2012; SILVA <i>et al.</i> , 2014
Pelargonidina 3-rutinosídeo	579	433	SILVA <i>et al.</i> , 2014

Foram identificados um aminoácido (L-arginina), um açúcar (sacarose), um ácido fenólico (ácido elágico xilosídeo) e cinco flavonoides (crisoeriol,

galocatequina, rhamnetina, delphinidina-3-glicosídeo e pelargonidina 3-rutinosídeo).

Dentre os compostos identificados nas farinhas de pericarpo de pequi no presente estudo, a sacarose já foi previamente identificada em frutos do pequi por Marx et al. (1997) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Além disso, Leão (2017) identificou a presença de ácido elágico, na sua forma não glicosilada, em farinhas de pericarpo de pequi por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-MS).

### 3.3.2 Fingerprints obtidos no modo de ionização negativo

Os possíveis compostos identificados nos *fingerprints* no (-)PS-MS estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** - Compostos identificados nas amostras de farinhas de pericarpo de pequi por (-)PS-MS

Identificação proposta	<i>m/z</i>	MS/MS	Referência
Ácido málico	115	71	WANG <i>et al.</i> , 2017
Ácido salicílico	137	93	FRISCIC <i>et al.</i> , 2016
Vanilina	151	123, 136	MARTINI <i>et al.</i> , 2018
Ácido protocatecuico	153	109	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2015; FRISCIC <i>et al.</i> , 2016
Umbeliferna	161	117, 133	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2015
Ácido gálico	169	97, 125	ROESLER <i>et al.</i> , 2008; WANG <i>et al.</i> , 2017
Ácido cafeico	179	135	CHEN <i>et al.</i> , 2012; FRISCIC <i>et al.</i> , 2016
Ácido quínico	191	111, 127, 173	DU <i>et al.</i> , 2012
Ácido ferúlico	193	149	FRISCIC <i>et al.</i> , 2016; WANG <i>et al.</i> , 2017
Ácido sinápico	223	179, 208	FRISCIC <i>et al.</i> , 2016; HAMED <i>et al.</i> , 2016

Ácido hidroxibenzílico málico (Ácido eucômico)	239	149, 177, 179, 195	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2014
Pinocembrina	255	169, 211	GOBBO-NETO & LOPES, 2008
Formonetina	267	208, 223	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2014
Baicalein	269	179, 251	DU <i>et al.</i> , 2012
Luteolina	285	133, 197, 213, 223, 239, 241, 243, 257, 267	ANNAPURNA <i>et al.</i> , 2013; KANG <i>et al.</i> , 2016
Catequina	289	245	KANG <i>et al.</i> , 2016
Ácido ricinoleico	297	183	WANG <i>et al.</i> , 2017
Taxifolina	303	125, 199, 285	KANG <i>et al.</i> , 2016
Isorhamnetina	315	300	KANG <i>et al.</i> , 2016
Ácido <i>p</i> -cumárico hexosídeo	325	119	KAJDŽANOSKA <i>et al.</i> , 2010
Isômero de glicose da galoil	331	125, 169	MARTINI <i>et al.</i> , 2018
Ácido cafeoilquínico	353	179, 191	KANG <i>et al.</i> , 2016
Ácido 3-O-feruloilquínico	367	149, 193	ALAKOLANGA <i>et al.</i> , 2014
Hexose ou Sacarose	377	341	CHEN <i>et al.</i> , 2012
Vitexina	431	311, 341	HAN <i>et al.</i> , 2008; WANG <i>et al.</i> , 2017
Quercetina arabinosídeo	433	300	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2015
Ácido elágico desoxihexosídeo	447	301	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2014
Catequina hexosídeo	451	289	KANG <i>et al.</i> , 2016
Isoquercitrina	463	301	FRISCIC <i>et al.</i> , 2016
(Epi) galocatequina hexose	467	261, 423	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2014
Derivado de ácido chicórico	473	293	CHEN <i>et al.</i> , 2012
Derivado de galoilhexose	505	169, 331	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2015

Ácido cafeoilferuloilquínico	529	193	GOBBO-NETO & LOPES, 2008
(Epi) catequina-(Epi) catequina (procianidina B IV)	577	407, 425	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2014
Quercetina-3-O- arabinoglicosídeo	595	433	ABU-REIDAH <i>et al.</i> , 2014
Ácido elágico galoil hexosídeo	615	301, 463	TEIXEIRA <i>et al.</i> , 2015
Miricetina galoil hexosídeo	631	316, 479	TEIXEIRA <i>et al.</i> , 2015
Estrictinina	633	301, 481	TEIXEIRA <i>et al.</i> , 2015

Foram identificados ácidos orgânicos, açúcares, ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas e taninos nas farinhas do pericarpo de pequi.

Entre os ácidos orgânicos identificados estão os ácidos málico ( $m/z$  115), quínico ( $m/z$  191) e ricinoleico ( $m/z$  297), dos quais o ácido quínico já havia sido identificado no fruto do pequi utilizando espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS) (ROESLER *et al.*, 2008).

No presente estudo foram detectados vários ácidos fenólicos já identificados anteriormente no fruto do pequi, dentre eles estão os ácidos protocatecuico ( $m/z$  153), gálico ( $m/z$  169), cafeico ( $m/z$  179), ferúlico ( $m/z$  193) e elágico desoxihexosídeo ( $m/z$  447) (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012; FERREIRA, 2019). Os ácidos *p*-cumárico e elágico também já foram identificados no pequi por Machado *et al.* (2015) e foram encontrados no presente estudo nas suas formas glicosiladas (ácido *p*-cumárico hexosídeo -  $m/z$  325 e elágico galoil hexosídeo -  $m/z$  615).

Também foram identificados vários flavonoides nas farinhas de pericarpo de pequi, predominando compostos da subclasse dos flavanois como a taxifolina ( $m/z$  303), isorhamnetina ( $m/z$  315), quercetina arabinosídeo ( $m/z$  433), isoquercitrina ( $m/z$  463), quercetina-3-O-arabinoglicosídeo ( $m/z$  595) e a miricetina galoil hexosídeo ( $m/z$  631). Alves *et al.* (2017) já identificaram a presença de isoquercitrina e quercetina no fruto do pequi empregando CLAE.

Na subclasse dos flavanois foram identificadas a catequina ( $m/z$  289), relatada anteriormente por Ferreira (2019) como presente no pequi, e seus derivados catequina hexosídeo ( $m/z$  451) e epigalocatequina hexose ( $m/z$  467).

O íon com  $m/z$  281 possivelmente corresponde à flavona luteolina, identificada anteriormente no fruto do pequi por Ferreira (2019) por CLAE-EMAR. Além desses flavonoides foram identificadas a flavononas pinocembrina ( $m/z$  255), a isoflavona formonetina ( $m/z$  267), as flavonas baicalein ( $m/z$  269) e vitexina ( $m/z$  431).

Estudos recentes demonstraram que os flavonoides desempenham diversas funções importantes, como atividade antioxidante, anti-inflamatória, anti-hipertensiva e antidiabética (IKARASHI *et al.*, 2018; LUO *et al.*, 2019; TEJADA *et al.*, 2018).

O íon com  $m/z$  161 corresponde à cumarina umbeliferona e foi confirmado após sua fragmentação ( $m/z$  117 e 133). Já o íon  $m/z$  633 corresponde ao tanino hidrolisável estrictinina.

Os compostos químicos identificados no pericarpo de pequi apresentam diversas funções benéficas à saúde, como elevada capacidade antioxidante, ação anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral e anticâncer, demonstrando o potencial funcional deste resíduo para utilização no desenvolvimento de novos produtos com elevado valor nutricional (IKARASHI *et al.*, 2018; LUO *et al.*, 2019; TEJADA *et al.*, 2018).

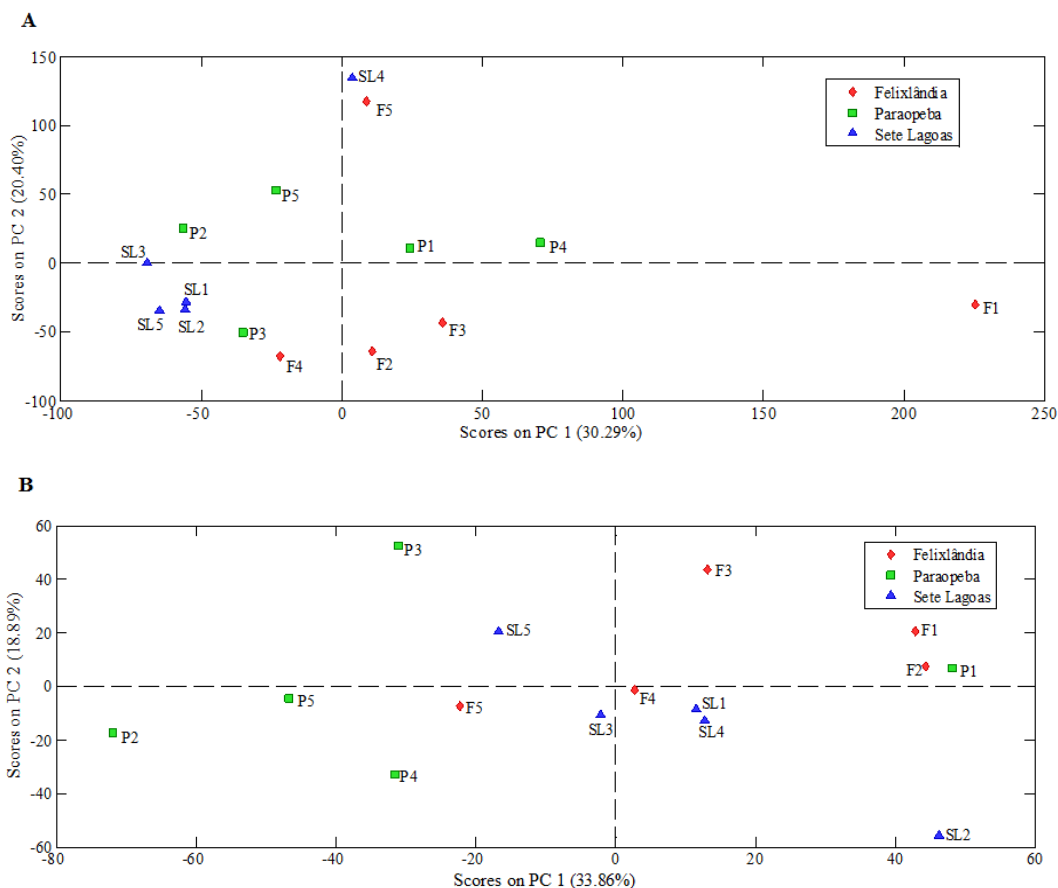
### 3.3.3 Análise dos componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais foi realizada utilizando os espectros de massas nos modos de ionização positivo e negativo. Os modelos foram construídos selecionando duas componentes principais (PC1 e PC2), que explicaram 50,69% (+ PS-MS) e 52,75% (- PS-MS) da variabilidade total dos dados. Em ambos os modos de ionização, a PCA demonstrou que não houve variação química entre os frutos provenientes das microrregiões estudadas (Figura 3).

A ausência de diferenciação entre as amostras pode ser justificada pelo fato de os municípios serem próximos entre si (distância de 36 km entre Sete Lagoas e Paraopeba, 87 km entre Paraopeba e Felixlândia e de 105 km de Sete Lagoas e Felixlândia), contribuindo para semelhança entre solos, temperatura, fatores de estresse e exposição solar. Segundo Telles *et al.* (2001), a melhor estratégia de amostragem para haver maior variabilidade

genética é utilizando o maior número de subpopulações a uma distância maior que 120 km.

**Figura 3** – Escores PC1 e PC2 no modo de ionização positivo (A) e negativo (B).



SL = Sete Lagoas, P = Paraopeba, F = Felixlândia.

### 3.4 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Os teores dos compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante dos pools de farinhas do pericarpo de pequi de cada município antes e após o processo de digestão simulada *in vitro* estão expressos na Tabela 5.

**Tabela 5** – Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de farinhas do pericarpo de pequi antes e após a digestão simulada *in vitro*.

Parâmetros	Digestão	Amostras		
		Sete Lagoas	Paraopeba	Felixlândia
Compostos fenólicos totais (mg AGE 100g <sup>-1</sup> )	Antes	12374,87 <sup>aA</sup> ± 9,40	8512,79 <sup>bA</sup> ± 18,18	11507,63 <sup>cA</sup> ± 17,03
	Após	19666,99 <sup>aB</sup> ± 20,82	14334,93 <sup>bB</sup> ± 15,69	15910,11 <sup>cB</sup> ± 19,41
ABTS (µM trolox g <sup>-1</sup> )	Antes	1153,50 <sup>aA</sup> ± 5,23	1080,03 <sup>bA</sup> ± 2,97	1105,53 <sup>cA</sup> ± 2,58
	Após	4811,65 <sup>aB</sup> ± 9,13	2859,25 <sup>bB</sup> ± 15,50	3497,98 <sup>cB</sup> ± 18,39
FRAP (µM sulfato ferroso g <sup>-1</sup> )	Antes	2081,41 <sup>aA</sup> ± 15,34	1419,42 <sup>bA</sup> ± 17,82	1953,82 <sup>cA</sup> ± 7,54
	Após	3023,74 <sup>aB</sup> ± 22,49	2208,47 <sup>bB</sup> ± 13,84	2829,71 <sup>cB</sup> ± 17,82
DPPH (µM TE g <sup>-1</sup> )	Antes	1541,77 <sup>aA</sup> ± 15,54	1435,69 <sup>bA</sup> ± 5,43	1299,38 <sup>cA</sup> ± 17,37
	Após	2150,65 <sup>aB</sup> ± 13,47	1964,16 <sup>bB</sup> ± 15,46	1955,93 <sup>bB</sup> ± 22,61

AGE = ácido gálico equivalente. TE = trolox equivalente. Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ;  $n=3$ ). Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ;  $n=3$ ).

Os teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante das farinhas de pericarpo de pequi diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre os municípios, sendo que o teor da amostra proveniente de Sete Lagoas foi estatisticamente superior em relação às outras regiões. Os dados obtidos no presente estudo para compostos fenólicos foram superiores aos de Monteiro et al. (2015) que relataram 7.200 mg AGE 100 g<sup>-1</sup> em extrato aquoso e 7.900 mg AGE 100 g<sup>-1</sup> em extrato hidroetanólico de pericarpo de pequi proveniente de Montes Claros.

As diferenças de resultados encontrados entre os estudos podem estar relacionadas com o nível de maturação dos frutos, a localização geográfica, o solo, o clima, o ataque de predadores, a radiação ultravioleta, entre outros (NASCIMENTO-SILVA *et al.*, 2020). A fase de maturação do pequi se inicia na 9ª semana após o início da frutificação e o período ideal para a colheita do fruto é na 12ª semana, quando já finalizou sua maturação e atingiu os teores máximos de compostos antioxidantes como  $\beta$ -caroteno e vitamina C (RODRIGUES *et al.*, 2015). Dessa forma, o período de coleta do pequi influencia diretamente no conteúdo de compostos bioativos presentes no fruto.

Outro fator que impacta na determinação do teor final dos compostos fenólicos é o processo de extração. Para uma extração eficiente, o solvente escolhido deve apresentar polaridade semelhante aos compostos fenólicos alvo (FANALI *et al.*, 2018).

Comparando-se os teores de compostos fenólicos das farinhas estudadas com os de resíduos de outras frutas, os dados do presente estudo foram superiores aos obtidos nas cascas de pera (LI *et al.*, 2014), pêssigo (LIU *et al.*, 2015) e baru (SANTIAGO *et al.*, 2018). Além disso, as amostras de farinha do pericarpo de pequi apresentaram atividade antioxidante superior à de farinhas de resíduos de abacaxi, caju, maracujá e manga (INFANTE *et al.*, 2013). Considerando que a quantidade de resíduo proveniente do pequi é superior à quantidade de resíduo proveniente de outras frutas como pera, pêssigo e manga, e que o pericarpo de pequi apresenta teor de compostos fenólicos superior ao encontrado no resíduo dessas frutas, a utilização desse resíduo se mostra ainda mais vantajosa.

Os teores de compostos fenólicos obtidos no presente estudo também foram muito superiores aos descritos para a polpa (209 mg AGE . 100 g<sup>-1</sup>) e semente do pequi (122 mg AGE . 100 g<sup>-1</sup>) (LIMA *et al.*, 2007). Este resultado corrobora com outros estudos realizados que compararam diferentes partes de frutas e demonstraram que os compostos fenólicos estão localizados preferencialmente nas cascas e sementes e em menores quantidades nas polpas (CONTRERAS-CALDERÓN *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2014; SANTIAGO *et al.*, 2018).

Após o processo de digestão simulada *in vitro* observou-se um aumento dos compostos fenólicos em um percentual variando de 38,26% a 68,39%. Devido ao fato de os compostos fenólicos estarem mais bioacessíveis, a capacidade antioxidante das amostras também foi superior após o processo de digestão simulada *in vitro*. Corroborando o resultado obtido no presente estudo, Su *et al.* (2017), Gullon *et al.* (2015a) e Gullon *et al.* (2015b) observaram aumento da atividade antioxidante, após digestão *in vitro*, em amostras de cascas de citrus, farinha de bagaço de maçã e farinha de casca de romã, respectivamente.

Os resultados obtidos para compostos fenólicos totais e para atividade antioxidante pelos métodos ABTS, FRAP e DPPH após o processo de digestão



*in vitro* demonstraram aumento significativo da capacidade antioxidante das farinhas de pericarpo de pequi. Esses resultados sugerem que diversas mudanças ocorrem nos compostos fenólicos, como a interação com outros componentes da matriz alimentar liberados durante a digestão gastrointestinal, como alguns minerais ou proteínas, bem como modificação da estrutura química ou aumento da solubilidade, que podem afetar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos (GULLON *et al.*, 2015a). Além disso, os compostos fenólicos normalmente estão presentes nos alimentos na forma de glicosídeos ligados à matriz alimentar. Como resultado da digestão e alteração do pH, esses compostos são hidrolisados e liberados da matriz alimentar (RODRÍGUEZ-ROQUE *et al.*, 2013), o que corrobora o resultado de melhora desta atividade antioxidante.

#### **4. Conclusão**

A avaliação da capacidade de inibição da acetilcolinesterase permitiu identificar potencial uso das farinhas de pericarpo de pequi como coadjuvantes no tratamento da doença de Alzheimer. No entanto, são necessários outros estudos para verificar melhor a viabilidade do seu uso e as concentrações necessárias para efetivamente reduzir os sintomas provocados pela doença. A análise dos *fingerprints* permitiu a identificação de 46 compostos químicos presentes nas amostras, sendo observada a predominância de flavonoides, que exercem diversos efeitos benéficos à saúde. As farinhas de pericarpo de pequi apresentaram teores de compostos fenólicos e de atividade antioxidante superiores aos descritos na literatura para farinhas de resíduos de outras frutas como abacaxi, caju, maracujá e manga, e também superiores aos descritos para a polpa de pequi. Além disso, o aumento da bioacessibilidade dos compostos fenólicos demonstrou o potencial antioxidante das farinhas de pericarpo de pequi que poderiam ser utilizadas no desenvolvimento de novos produtos pela indústria de alimentos, capazes de reduzir o risco de desenvolvimento de doenças causadas pelo estresse oxidativo.

## Referências

ABU-REIDAH, I. M.; DEL MAR CONTRERAS, M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. UHPLC-ESI-QTOF-MS-based metabolic profiling of *Vicia faba* L. (*Fabaceae*) seeds as a key strategy for characterization in foodomics. **Electrophoresis**, v. 35, n. 11, p. 1571–1581, 2014.

ABU-REIDAH, I. M.; ALI-SHTAYEH, M. S.; JAMOUS, R. M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (*Sumac*) fruits. **Food Chemistry**, v. 166, p. 179–191, 2015.

ALAKOLANGA, A. G. A. W.; SIRIWARDANE, A. M. D. A.; SAVITRI KUMAR, N.; JAYASINGHE, L.; JAÍSWAL, R.; KUHNERT, N. LC-MSn identification and characterization of the phenolic compounds from the fruits of *Flacourtia indica* (*Burm. F.*) Merr. and *Flacourtia inermis* Roxb. **Food Research International**, v. 62, p. 388–396, 2014.

ALVES, A. M.; DIAS, T.; HASSIMOTTO, N. M. A.; NAVES, M. M. V. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 564-569, 2017.

AMORIM, D.J.;REZENDE, H. C.; OLIVEIRA, E,L.; ALMEIDA I.L.S; COELHO,N.M.M; MATOSA T. N.; ARAÚJO,S,T. Characterization of Pequi (*Caryocar brasiliense*) Shells and Evaluation of Their Potential for the Adsorption of PbIIons in Aqueous Systems. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 3, 2016.

ANNAPURNA, H. V.; APOORVA, B.; RAVICHANDRAN, N.; ARUN, K. P.; BRIDHA, P.; SWAMINATHAN, S.; VIJAYALAKSHMI, M.; NAGARAJAN, A. Isolation and in silico evaluation of antidiabetic molecules of *Cynodon dactylon* (L.). **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 39, p. 87–97, 2013.

AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). Official methods of analysis. 19th ed. Gaithersburg: AOAC, 2012.

ARROZI, A. P.; WAN NGAH, W. Z.; YUSOF, Y. A. M.; DAMANHURI, H.; MAKPOL, S. Antioxidant modulation in restoring mitochondrial function in neurodegeneration. **International Journal of Neuroscience**, v. 127, n. 3, p. 218–235, 2017.

BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T. C. Fibra alimentar – Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 57, n. 6, 2013

BRASIL, Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 54, DE 12 DE NOVEMBRO DE 2012. **Regulamento técnico sobre informação nutricional complementar**. Brasília – Distrito Federal, 2012.

CAMPELO, F. A.; HENRIQUES, G. S.; SIMEONE, M. L. F.; QUEIROZ, V. A. V.; SILVA M. R., AUGUSTI, R., MELO, J. O. F.; LACERDA I. C. A.; ARAÚJO, R. L. B.. Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society** , v. 31, p.788-802, 2020.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de Secagem de Alimentos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, janeiro, 2010.

CHEN, H. J.; INBARAJ, B. S.; CHEN, B. H. Determination of phenolic acids and flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with a post-column derivatization technique. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 260-285, 2012.

CHISTÉ, R. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification and Quantification, by HPLC-DAD-MS/MS, of Carotenoids and Phenolic Compounds from the

Amazonian Fruit *Caryocar villosum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5884–5892, 2012.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L.; GUERRA HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, p. 2047–2053, 2011.

COUTO, E. M. **Utilização da farinha de casca de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) na elaboração de pão de forma**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; VARI, R.; SCAZZOCCHIO, B.; MASELLA, R. Bioavailability of the polyphenols: Status and controversies. **International Journal of Molecular Science**, v. 11, n. 4, p. 1321–1342, 2010.

DENG, J.; YANG, Y. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bansha herbal tea using paper spray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 785, p. 82-90, 2013.

DI DONNA L; TAVERNA D; INDELICATO S; NAPOLI A; SINDONA G; MAZZOTTI F. Rapid assay of resveratrol in red wine by paper spray tandem mass spectrometry and isotope dilution. **Food Chemistry**, v. 229, p. 354-357, 2017.

DU, Q.; DENG, J.; LIU, Y., ZHANG, X.; YANG, Y.; CHEN, J. Rapid assessing the quality of Qingkailing products using wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry combined with multivariate statistical analysis. **Analytical Methods**, v. 2015, p. 1-3, 2012.

ELLMANN, G. L. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v.7, p. 88–95, 1961.

EVARD, H.; KRUIVE, A.; LÖHMUS, R.; LEITO, I. Paper spray ionization mass spectrometry: Study of a method for fast-screening analysis of pesticides in fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 221-225, 2005

FANALI, C.; TRIPODO, G.; RUSSO, M.; DELLA POSTA, S.; PASQUALETTI, V.; DE GARA, L. Effect of solvent on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of hazelnut kernel. **ELECTROPHORESIS**, v. 39: p. 1683-1691, 2018.

FERREIRA, C. M. **Análise química de extratos de *Caryocar brasiliense* com potencial antioxidante**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.

FLORES, G.; DASTMALCHI, K.; PAULINO, S.; WHALEN, K. DABO, A. J.; REYNERTSON, K. A., FORONJY, R. F.; D'ARMIENTO, J. M.; KENNELLY, E. J. Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1256-1262, 2012

FRASER, K.; COLLETTE, V.; HANCOCK, K. R. Characterization of Proanthocyanidins from Seeds of *Perennial Ryegrass* (*Lolium perenne*L.) and *Tall Fescue* (*Festuca arundinacea*) by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 35, p. 6676–6684, 2016.

FRISCIC, M.; BUCAR, F.; HAZLER PILEPIC, K. LC-PDA-ESI-MS analysis of phenolic and iridoid compounds from *Globularia spp.* **Journal of Mass Spectrometry**, v. 51, n. 12, p. 1211–1236, 2016.

GARRETT, R.; REZENDE, C. M.; IFA, D. R. Coffee origin discrimination by paper spray mass spectrometry and direct coffee spray analysis. **Analytical Methods**, v. 5, p. 5944-5948, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Online Identification of Chlorogenic Acids, Sesquiterpene Lactones, and Flavonoids in the Brazilian Arnica *Lychnophora ericoides* Mart. (Asteraceae) Leaves by HPLC-DAD-MS and HPLC-DAD-MS/MS and a Validated HPLC-DAD Method for Their Simultaneous Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 4, p. 1193–1204, 2008.

GOGICHAEVA, N. V.; WILLIAMS, T.; ALTERMAN, M. A. MALDI TOF/TOF Tandem mass spectrometry as a new tool for amino acid analysis. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 18, p. 279-284, 2007.

GULLON, B.; PINTADO, M. E.; BARBER, X.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. Bioaccessibility, changes in the antioxidant potential and colonic fermentation of date pits and apple bagasse flours obtained from co-products during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Research International**, v.78, p. 169–176, 2015a.

GULLON, B.; PINTADO, M. E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. *In vitro* gastrointestinal digestion of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-products: Changes in the antioxidant potential and bioactive compounds stability. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 617–628, 2015b.

GUO, Y.; GU, Z.; LIU, X.; LIU, J.; MA, M.; CHEN, B.; WANG, L. Rapid analysis of corni fructus using paper spray-mass spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 28, p. 344-350, 2017.

HAMED, A. I.; SAIS, R. B.; KONTEK, B.; AL-AYED, A. S.; KOWALCZYK, M.; MOLDOCH, J.; STOCHMAL, A.; OLAS, B. LC–ESI-MS/MS profile of phenolic and glucosinolate compounds in samh flour (*Mesembryanthemum forsskalei* Hochst. ex Boiss) and the inhibition of oxidative stress by these compounds in human plasma. **Food Research International**, v. 85, p. 282–290, 2016.

HAN, J.; YE, M.; QIAO, X.; XU, M.; WANG, B.; GUO, D. A. Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid

chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, n. 3, 2008.

HERNANDEZ, M. F.; FALÉ, P. L.V.; ARAÚJO, M. E. M.; SERRALHEIRO, M. L. M. Acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of the water extracts of several *Hypericum* species. **Food Chemistry**, v. 120, p. 1076-1082, 2010.

HUBER, K.; QUEIROZ, J. H.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R. Chemical characterization of agricultural by-products from ubá 54 mango (*Mangifera indica* L.): a perspective for obtaining natural antioxidants. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 06, n. 01, 2012.

IKARASHI, N., TODA, T., HATAKEYAMA, Y., KUSUNOKI, Y., KON, R., MIZUKAMI, N., KANEKO, M., OGAWA, S., & SUGIYAMA, K. Anti-Hypertensive Effects of Acacia Polyphenol in Spontaneously Hypertensive Rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, 700, 2018.

INFANTE, J.; SELANI, M. M.; TOLEDO, N. M. V.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; ALENCAR, S. M.; SPOTO, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 87-91, 2013.

KAJDŽANOSKA, M.; GJAMOVSKI, V.; STEFOVA, M. HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 29, n. 2, p. 181-194, 2010.

KANG, J.; PRICE, W. E.; ASHTON, J.; TAPSELL, L. C.; JOHNSON, S. Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of sorghum wholegrains by LC-ESI-MS<sup>n</sup>. **Food Chemistry**, v. 211, p. 215–226, 2016.

LANE, C. A., HARDY, J., & SCHOTT, J. M. Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, v. 25, n. 1, p. 59–70, 2017.

LEÃO, D. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BASTOS, R.; COIMBRA, M. A. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146–153, 2017.

LEÃO, D.P.; BOTELHO, B.; OLIVEIRA, L.; FRANCA, A. Potential of pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) peels as sources of highly esterified pectins obtained by microwave assisted extraction. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 87, p. 575-580, 2018.

LEE, J.-H.; JOHNSON, J. V.; TALCOTT, S. T. Identification of Ellagic Acid Conjugates and Other Polyphenolics in Muscadine Grapes by HPLC-ESI-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6003–6010, 2015.

LI, XIA.; WANG, T.; ZHOU, B.; GAO, W.; CAO, J.; HUANG, L. Chemical composition and antioxidant and anti-inflammatory potential of peels and flesh from 10 different pear varieties (*Pyrus spp.*). **Food Chemistry**, v. 152, p. 531–538, 2014.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R.P.; MANCINI FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LIU, H.; CAO, J.; JIANG, W. Evaluation and comparison of vitamin C, phenolic compounds, antioxidant properties and metal chelating activity of pulp and peel from selected peach cultivars. **Food Science and Technology**, v. 63, p. 1042–1048, 2015.

MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense Camb.*) aqueous extract quality processed by membranes. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, p. 304-312, 2015.



MARTINI, S., CONTE, A., TAGLIAZUCCHI, D. Comprehensive evaluation of phenolic profile in dark chocolate and dark chocolate enriched with Sakura green tea leaves or turmeric powder. **Food Research International**, v. 112, p. 1–16, 2018.

MARX, F., ANDRADE, E. & MAIA, J. Chemical composition of the fruit pulp of *Caryocar villosum*. **Z Lebensm Unters Forsch**, v. 204, p. 442–444, 1997.

MAZZOTTI, F.; DONNA, L.; TAVERNA, D.; NARDI, M.; AIELLO, D.; NAPOLI, A.; SINDONA, G. Evaluation of dialdehydic anti-inflammatory active principles in extra-virgin olive oil by reactive paper spray mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 352, p. 87-91, 2013.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER, L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; M'ENARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, S. J.; WEITSCHIEST, W.; BRODKORB, A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. **Food & Function**, v. 5, p. 1113–1124, 2014

MONTEIRO, S. S.; SILVA, R. R.; MARTINS, S. C.; BARIN, J. S., ROSA, C. S. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts of pequi peel (*Caryocar brasiliense* Camb.). **International Food Research Journal**, v. 22, p. 1985–1992, 2015.

MOREIRA, R. V.; COSTA, M. P.; CASTRO, V. S.; PAES, C. E.; MUTZ Y. S.; FRASAO, B. S.; MANO, S. B.; CARLOS A. CONTE-JUNIOR. Short communication: Antimicrobial activity of pequi (*Caryocar brasiliense*) waste extract on goat Minas Frescal cheese presenting sodium reduction, **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 2966-2972, 2019.

MOTA, W. M.; BARROS, M. L.; CUNHA, P. E. L.; SANTANA, M. V. A.; STEVAM, C. S.; LEOPOLDO, P. T. G., FERNANDES, R. P. M. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 624-628, 2012.

NASCIMENTO-SILVA, N.; MENDES, N.; SILVA, F. Nutritional composition and total phenolic compounds content of pequi pulp (*Caryocar brasiliense* Cambess.). **Journal Of Bioenergy And Food Science**, v. 7, 2020

OLIVEIRA, A. L., DESTANDAU, E., FOUGÈRE, L., LAFOSSE, M. Isolation by pressurised fluid extraction (PFE) and identification using CPC and HPLC/ESI/MS of phenolic compounds from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 145, p. 522–529, 2014.

OLIVEIRA, F. C.; MARQUES, T. R.; MACHADO, G. H. A.; DE CARVALHO, T. C. L.; CAETANO, A. A.; BATISTA, L. R.; CORRÊA, A. D. Jabuticaba skin extracts: phenolic compounds and antibacterial activity. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

OZCAN, S.; SENYUVA, H. Z. Improved and simplified liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry method for the analysis of underivatized free amino acids in various foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1135, p. 179-185, 2006.

PEREIRA, I.; RODRIGUES, S.M.; CARVALHO, T.D.; CARVALHO, V.V.; LOBÓN, G.S.; BASSANE, J.F.; DOMINGOS, E.; ROMÃO, W.; AUGUSTI, R.; VAZ, B.G. Rapid screening of agrochemicals by paper spray ionization and leaf spray mass spectrometry: which technique is more appropriate? **Analytical Methods**, v.8, p.6023-6029, 2016a.

PEREIRA H.V.; AMADOR V.S.; SENA M.M.; AUGUSTI R.; PICCIN E. Paper spray mass spectrometry and PLS-DA improved by variable selection for the forensic discrimination of beers. **Analytica Chimica Acta**, v. 940, p. 104-112, 2016b.

RODRIGUES, L. J.; FERREIRA DE PAULA, N. R.; PINTO, D. M. ; VILAS BOAS, E. V. B. Growth and maturation of pequi fruit of the Brazilian cerrado. **Journal of Food Science and Technology** , v.35, p.11-17, 2015.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, p. 206–212, 2013.

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

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

SANTIAGO, G. L.; OLIVEIRA, I. G.; HORST M. A.; NAVES M. M. V.; SILVA, M. R. Peel and pulp of baru (*Dipteryx Alata Vog.*) provide high fiber, phenolic content and antioxidant capacity. **Food Science and Technology**, v. 38, n.2, p. 244-249, 2018.

SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, p. 492–501, 2007

SILVA, C. A. A.; FONSECA, G.G. Brazilian savannah fruits: Characteristics, properties, and potential applications. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 1225-1232, 2016.

SILVA, N. A.; RODRIGUES, E.; MERCADANTE, A. Z.; ROSSO, V. V. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic

Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 5072-5084, 2014.

SILVA, M.; FREITAS, L.G.; SOUZA, A.G.; ARAÚJO, R.L.; LACERDA, I.C.; PEREIRA, H.V.; AUGUSTI, R.; MELO, J.O. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 1034-1044, 2019

SINDHI, V.; GUPTA V.; SHARMA K.; BHATNAGAR S.; KUMARI R., DHAKA N. Potential applications of antioxidants – A review, **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, p. 828-835, 2013.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SNEHA, A.; DULAY, M.; ZARE, R. Introducing mass spectrometry to first-year undergraduates : Analysis of caffeine and other components in energy drinks using paper-spray mass spectrometry, **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 418, p. 156-161, 2017.

SOARES JÚNIOR, M. S.; REIS, R. C.; BASSINELLO, P. Z.; LACERDA, D. B. C.; KOAKUZU, S. N.; CALIARI, M. Qualidade de biscoitos formulados com diferentes teores de farinha de casca de pequi. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 2, p. 98-104, 2009.

SOQUETTA, M. B., STEFANELLO, F. S., HUERTA, K. M., MONTEIRO, S. S., DA ROSA, C. S., TERRA, N. N. Characterization of physiochemical and microbiological properties, and bioactive compounds, of flour made from the skin and bagasse of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). **Food Chemistry**, v. 199, p. 471–478, 2016.

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

STANISAVLJEVIC, N.; SAMARDZIC, J.; JANKOVIC, T.; SAVIKIN, K.; MOJSIN, M.; TOPALOVIC, V.; STEVANOVIC, M. Antioxidant and antiproliferative activity of chokeberry juice phenolics during *in vitro* simulated digestion in the presence of food matrix. **Food Chemistry**, v. 175, p. 516–522, 2015.

SU, D.; LIU, H.; ZENG, Q.; QI, X.; YAO, X.; ZHANG, J. Changes in the phenolic contents and antioxidant activities of citrus peels from different cultivars after *in vitro* digestion. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 2471–2478, 2017.

TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; BERTOLINE, D.; CONTE, A. *In vitro* bio- accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120 p. 599–606, 2010.

TEIXEIRA, J.; GASPAR, A.; GARRIDO, E. M.; GARRIDO, J.; BORGES, F. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–11, 2015

TEJADA, S.; PINYA, S.; MARTORELL, M.; CAPÓ, X.; TUR, J. A.,; PONS, A.; SUREDA, A. Potential Anti-inflammatory Effects of Hesperidin from the Genus Citrus. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 37, p. 4929-4945, 2018.

TELLES, M. P. DE C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; COELHO, A. S.G. CHAVES, L. J.. Autocorrelação espacial das frequências alélicas em subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC., *Myrtaceae*) no sudeste de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, 2001

TEODORO, J.A.; PEREIRA, H.V.; SENA, M.; PICCIN, E.; ZACCA, J.J.; AUGUSTI, R. Paper spray mass spectrometry and chemometric tools for a fast

and reliable identification of counterfeit blended Scottish whiskies. **Food chemistry**, v. 237, p. 1058-1064, 2017

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 301-304, 2003.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do mal de Alzheimer. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 655-660, 2004.

VINUTHA, B.; PRASHANTH, D.; SALMA, K.; SREEJA, S. L.; PRATITI, D.; PADMAJA, R.; RADHIKA, S.; AMIT, A.; VENKATESHWARLU, K.; DEEPAK, M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 359–363, 2007.

WANG, S. Y.; CAMP, M. J.; EHLENFELDT, M. K. Antioxidant capacity and a glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium spp.*) cultivars. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1759–1768, 2012.

WANG, J.; JIA, Z.; ZHANG, Z.; WANG, Y.; LIU, X.; WANG, L.; LIN, R. Analysis of Chemical Constituents of *Melastoma dodecandrum* Lour. by UPLC-ESI-Q-Exactive Focus-MS/MS. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 476, 2017.

ZHAO, G.; ZHANG, R.; DONG, L.; HUANG, F.; TANG, X.; WEI, Z.; ZHANG, M. Particle size of insoluble dietary fiber from rice bran affects its phenolic profile, bioaccessibility and functional properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, p. 450-456, 2018.

ZHI-PING, Z.; XIAO-NING, L.; YA-JUN, Z. Ambient ionization-paper spray ionization and its application. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 42, n. 1, p. 145-152, 2014.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica HS-SPME se mostrou eficiente para extrair os COVs presentes no pericarpo de pequi, permitindo a identificação de diversos compostos. O uso de elevadas temperaturas (65 °C) por um longo período de tempo (40 min) permitiu maior extração de COVs.

As farinhas produzidas a partir do pericarpo de pequi se mostraram relevantes do ponto de vista nutricional e funcional, além de apresentarem potencial para serem utilizadas como inibidoras da acetilcolinesterase. Além disso, considerando a elevada capacidade antioxidante e a presença de vários compostos fenólicos, principalmente flavonoides, pode-se dizer que a farinha de pericarpo de pequi constitui uma matriz alimentar nutricionalmente adequada, capaz de proporcionar diversos benefícios à saúde em decorrência de sua rica composição em compostos bioativos, podendo contribuir para a redução do risco de desenvolvimento de doenças causadas pelo estresse oxidativo.