

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE FARMÁCIA

LAÍS MAIA RESENDE

**FARINHAS DE CASCA DE JABUTICABA: CARACTERIZAÇÃO,  
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL COMO FONTE DE PECTINA, ESTUDO  
DA INTERAÇÃO FIBRAS-POLIFENÓIS E PREDIÇÃO DE  
COMPOSTOS POR ESPECTROSCOPIA FTIR**

Belo Horizonte

2021

LAÍS MAIA RESENDE

**FARINHAS DE CASCA DE JABUTICABA: CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO DO POTENCIAL COMO FONTE DE PECTINA, ESTUDO DA INTERAÇÃO FIBRAS – POLIFENÓIS E PREDIÇÃO DE COMPOSTOS POR ESPECTROSCOPIA FTIR**

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

Orientadora: Professora Dra. Adriana Silva França

Belo Horizonte

2021

R433f Resende, Laís Maia.  
Farinhas de casca de jabuticaba: caracterização, avaliação do potencial como fonte de pectina, estudo da interação fibras-polifenóis e predição de compostos por espectroscopia FTIR / Laís Maia Resende. – 2021.  
160 f. : il.

Orientadora: Adriana Silva França.

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

1. Jabuticaba – Teses. 2. Antioxidantes – Teses. 3. Antocianinas – Teses. 4. Fibras alimentares – Teses. 5. Emulsificantes – Teses. 6. Fourier, Espectroscopia de infravermelho por transformada de – Teses. I. França, Adriana Silva. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. 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

**FARINHAS DE CASCA DE JABUTICABA: CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO DO POTENCIAL COMO FONTE DE PECTINA, ESTUDO DA INTERAÇÃO FIBRAS-POLIFENÓIS E PREDIÇÃO DE COMPOSTOS POR ESPECTROSCOPIA FTIR**

**LAÍS MAIA RESENDE**

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 16 de setembro de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Dra. Adriana Silva França (Orientadora e Presidente da Comissão) - UFMG

Prof. Dr. Renan Campos Chisté - UFPA

Profa. Dra. Julia Teixeira de Paula - UFMT

Prof. Dr. Bruno Gonçalves Botelho - UFMG

Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo - UFMG

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Linhares Bello de Araujo, Professora do Magistério Superior**, em 16/09/2021, às 16:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Goncalves Botelho, Professor do Magistério Superior**, em 16/09/2021, às 17:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renan Campos Chisté, Usuário Externo**, em 16/09/2021, às 17:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adriana Silva Franca, Professora do Magistério Superior**, em 17/09/2021, às 07:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Julia Teixeira de Paula, Usuário Externo**, em 17/09/2021, às 09:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º 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?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[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 **0965703** e o

código CRC **C96FDEE6**.

## RESUMO

A jabuticaba (*Plinia* sp.) é uma fruta nativa do Brasil, cuja polpa é consumida fresca ou na forma de geleias, bebidas e sobremesas. Suas cascas de cor roxo escuro a preto são usualmente descartadas. Os objetivos gerais deste trabalho foram produzir e caracterizar farinhas de casca de jabuticaba (FCJ), visando o aproveitamento e a conservação desse resíduo rico em fibras alimentares e compostos bioativos. Foram produzidas FCJ a partir de vinte e oito lotes de jabuticabas de diferentes origens. A caracterização foi realizada por técnicas convencionais e por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Foram avaliados composição centesimal; fibras alimentares solúveis e insolúveis; conteúdos totais de antocianinas, carotenoides, fenólicos extraíveis e não extraíveis; e teores de cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo e ácido elágico. Modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), empregando dados de FTIR, foram construídos para prever a concentração de compostos. Pectinas foram obtidas a partir de farinha de casca de jabuticaba por extração assistida por ultrassom e aquecimento a baixa temperatura (cerca de 40 °C) por micro-ondas, com e sem o auxílio de enzimas e, também por banho de água. Interações entre os polifenóis extraíveis de farinha de casca de jabuticaba com fibra alimentar total e pectina extraídas da própria farinha, além de celulose comercial, foram investigadas em digestão simulada. Foi observada alta variabilidade na composição das cascas de jabuticaba. Os modelos PLS previram satisfatoriamente a concentração de fibras, fenólicos e antocianinas totais, cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo e ácido elágico, com resultados semelhantes aos métodos analíticos convencionais. Foram obtidas quatro pectinas com bom desempenho emulsificante e elevada capacidade de intumescimento. Após a digestão simulada, o conteúdo de cianidina-3-glicosídeo livre reduziu e o de ácido elágico livre aumentou. Todas as fibras apresentaram aumento da capacidade antioxidante pós-digestão, indicando a adsorção de polifenóis.

Palavras-chave: jabuticaba; infravermelho; antioxidantes; antocianinas; fibras alimentares; emulsificante.

## ABSTRACT

Jaboticaba (*Plinia* sp.) is a fruit native to Brazil, whose pulp is consumed fresh or in the form of jams, drinks and desserts. Their dark purple to black peels are usually discarded. Jaboticaba peel flours were produced as a strategy to use and conserve this residue, which is rich in dietary fiber and bioactive compounds. The general objectives of this study were to produce and characterize jaboticaba peel flours (JPF), aiming at the use and conservation of this residue rich in dietary fiber and bioactive compounds. JPF were produced from twenty-eight lots of jaboticabas from different origins. Characterization was performed by conventional techniques and by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The tests performed were proximate composition; soluble and insoluble dietary fiber; total contents of anthocyanins, carotenoids, extractable and non-extractable phenolics; and cyanidin-3-glycoside, delphinidin-3-glycoside and ellagic acid contents. Partial least squares (PLS) regression models, employing FTIR data, were constructed to predict the concentration of compounds. Pectins were obtained from jaboticaba peel flour by ultrasound-assisted extraction and heating at low temperature (about 40 °C) by microwave, with and without the aid of enzymes, and also by a water bath. Interactions between extractable polyphenols from jaboticaba peel flour with total dietary fiber and pectin extracted from the flour itself, in addition to commercial cellulose, were investigated in simulated digestion. High variability was observed in the composition of jaboticaba peels. The PLS models satisfactorily predicted the concentration of fibers, phenolics and total anthocyanins, cyanidin-3-glucoside, delphinidin-3-glucoside and ellagic acid, with results similar to conventional analytical methods. Four pectins with good emulsifying performance and high swelling capacity were obtained. After simulated digestion, the free cyanidin-3-glucoside content reduced and the free ellagic acid content increased. All fibers showed increased post-digestion antioxidant capacity, indicating the adsorption of polyphenols.

**Keywords:** jaboticaba; infra-red; antioxidants; anthocyanins; dietary fiber; emulsifier.

Aos meus pais.

## Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Renato e Elzinha, pelo incentivo que sempre me deram para buscar o conhecimento e por apoiarem minhas decisões. Agradeço aos meus irmãos, Rafael e Lorena, pelo apoio e torcida. E agradeço ao Marcos pelo companheirismo, apoio e suporte emocional durante toda essa jornada.

Agradeço a cada uma das pessoas que me ajudaram com as doações de jabuticabas: Aline, Cida, Mariana, Celi, Consolação, Lourdes, Emiliana, William, Alex, Nilson, Sandra, Ramon, Eduardo, Cláudia, Urânia, Fabiana, Marcos, Elzinha e Renato.

Agradeço à minha orientadora Adriana pela parceria nesses últimos anos, me dando oportunidades de diferentes aprendizados e vivências. Agradeço também pela compreensão e apoio nos momentos difíceis. Agradeço ao professor Leandro pelas colaborações e suporte no laboratório.

Agradeço aos meus amigos da “Copinha”, em especial ao Léo e ao Filipe, por dividirem tantos momentos alegres e importantes nesses últimos anos. Agradeço aos meus colegas de laboratório pela parceria durante essa jornada. Em especial, ao William, pela amizade generosa e por não medir esforços para ajudar com o transporte durante a pandemia; à Andréia pela amizade tão querida e conversas tão esclarecedoras; à Carol pela amizade, apoio no laboratório e por tantos momentos juntas; à Michelle e à Letícia pela troca de experiências na rotina dos experimentos. Agradeço à Kelly, querida e eficiente estagiária, que me ajudou com tanto zelo em parte dos experimentos no laboratório.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- JABUTICABEIRA E FRUTOS DE JABUTICABA MADUROS.....	19
FIGURA 2- ESTRUTURA DE CELULOSE E DE XILOGLUCANA.....	24
FIGURA 3 – ÁCIDO GALACTURÔNICO E DOMÍNIOS PÉCTICOS.....	26
FIGURA 4 - ESTRUTURAS DE FLAVONOIDES.....	28
FIGURA 5 - ESTRUTURAS DE ANTOCIANINA, PROANTOCIANIDINA E CAROTENO .....	29
FIGURA 6 - ESQUEMA DE UM ESPECTROFOTÔMETRO FTIR.....	34
FIGURA I 1 – MAPA DOS MUNICÍPIOS DE ORIGEM DAS AMOSTRAS DE FRUTOS DE JABUTICABA.....	43
FIGURA I 2- IMAGENS DAS FCJ PRODUZIDAS.....	50
FIGURA I 3- GRÁFICO DOS CONTEÚDOS DE FENÓLICOS TOTAIS EXTRAÍVEIS DAS FCJ.....	56
FIGURA I 4- GRÁFICO DOS CONTEÚDOS DE PROANTOCIANIDINAS DAS FCJ.....	57
FIGURA I 5- GRÁFICO DOS CONTEÚDOS DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTAIS DAS FCJ.....	58
FIGURA I 6- GRÁFICO DOS CONTEÚDOS DE CAROTENOIDES TOTAIS DAS FCJ ..	59
FIGURA I 7- GRÁFICOS DOS CONTEÚDOS DE CLOROFILAS DAS FCJ.....	60
FIGURA I 8- IMAGENS DOS ESPECTROS FTIR DE FCJ (VERMELHO) E DAS FRAÇÕES DE FIBRA ALIMENTAR INSOLÚVEL (VERDE) E SOLÚVEL (AZUL)	61
FIGURA I 9- GRÁFICO PC1 X PC2 DOS DADOS FTIR DE FRAÇÕES DE FIBRA ALIMENTAR E DE FCJ.....	63
FIGURA I 10- GRÁFICO DE PC1 VS. PC2 DOS DADOS DE FTIR.....	64
FIGURA I 11- GRÁFICO <i>BILOT</i> PC1 VS. PC2 DOS DADOS DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	64
FIGURA I 12- GRÁFICO DE PC1 VS. PC2 DOS DADOS DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FCJ CLASSIFICADAS SEGUNDO AS MESORREGIÕES DE ORIGEM DAS JABUTICABAS.....	67
FIGURA I 13- GRÁFICO DE PC1 VS. PC2 DOS DADOS DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FCJ CLASSIFICADAS SEGUNDO AS MICRORREGIÕES DE ORIGEM DAS JABUTICABAS.....	67
FIGURA I 14- GRÁFICO DOS VALORES PREDITOS VS. MENSURADOS DE FAI.....	69
FIGURA I 15- GRÁFICO DE <i>VIP SCORES</i> DE FAI.....	69
FIGURA I 16- GRÁFICO DOS VALORES PREDITOS VS. MENSURADOS DE FAS.....	70
FIGURA I 17- GRÁFICO DE <i>VIP SCORES</i> DE FAS.....	70
FIGURA I 18- GRÁFICO DOS VALORES PREDITOS VS. MENSURADOS DE FTE.....	71
FIGURA I 19- GRÁFICO DE <i>VIP SCORES</i> DE FTE.....	71
FIGURA I 20- GRÁFICO DOS VALORES PREDITOS VS. MENSURADOS DE AMT....	72
FIGURA I 21- GRÁFICO DE <i>VIP SCORES</i> DE AMT.....	72

FIGURA II 1- CROMATOGRAMAS DE POLIFENÓIS DE FCJ .....	80
FIGURA II 2- GRÁFICOS DOS CONTEÚDOS DE C3G, D3G E ÁCIDO ELÁGICO NAS FCJ .....	81
FIGURA II 3-GRÁFICO <i>BILOT</i> PC1 VS. PC2 DOS DADOS DE POLIFENÓIS E PARÂMETROS DE COR .....	85
FIGURA II 4- GRÁFICO <i>BILOT</i> PC1 VS. PC2 MOSTRANDO A DISTRIBUIÇÃO POR MESORREGIÃO DE ORIGEM DAS JABUTICABAS.....	85
FIGURA II 5- GRÁFICO <i>BILOT</i> PC1 VS. PC2 MOSTRANDO A DISTRIBUIÇÃO POR MICRORREGIÃO DE ORIGEM DAS JABUTICABAS.....	86
FIGURA II 6- GRÁFICO <i>BILOT</i> PC1 VS. PC2 MOSTRANDO A DISTRIBUIÇÃO POR MESORREGIÃO DE ORIGEM DAS JABUTICABAS SEM A AMOSTRA A17 .....	86
FIGURA II 7- GRÁFICO <i>BILOT</i> PC1 VS. PC2 MOSTRANDO A DISTRIBUIÇÃO POR MICRORREGIÃO DE ORIGEM DAS JABUTICABAS SEM A AMOSTRA A17 .....	87
FIGURA II 8- ESPECTROS FTIR DE 1800 A 600 CM-1 DAS FCJ .....	88
FIGURA II 9- GRÁFICOS DOS VALORES PREDITOS VS. MENSURADOS E DE VIP <i>SCORES</i> PARA C3G .....	89
FIGURA II 10- ESPECTROS FTIR DE ANTOCIANINAS .....	90
FIGURA II 11- GRÁFICOS DOS VALORES PREDITOS VS. MENSURADOS E DE VIP <i>SCORES</i> PARA D3G .....	90
FIGURA II 12- GRÁFICOS DOS VALORES PREDITOS VS. MENSURADOS E DE VIP <i>SCORES</i> PARA AE .....	91
FIGURA II 13- ESPECTRO FTIR DO ÁCIDO ELÁGICO.....	92
FIGURA III 1 – FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DAS PECTINAS DE FARINHA DE CASCA DE JABUTICABA .....	99
FIGURA III 2- ESPECTROS DE FTIR DAS PECTINAS DE FARINHA DE CASCA DE JABUTICABA .....	104
FIGURA III 3- DISTRIBUIÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS NEUTROS .....	107
FIGURA IV 1- FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DOS MÉTODOS .....	121
FIGURA IV 2- GRÁFICO DO CONTEÚDO DOS POLIFENÓIS LIVRES NOS FILTRADOS .....	125
FIGURA IV 3- GRÁFICO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DAS FIBRAS ALIMENTARES.....	130

## LISTA DE TABELAS

TABELA I 1 - RELAÇÃO DAS AMOSTRAS DE JABUTICABAS UTILIZADAS NO ESTUDO .....	43
TABELA I 2- PROPORÇÃO DE CASCAS, RENDIMENTO, UMIDADE E PARÂMETROS DE COR DAS FCJ .....	51
TABELA I 3- COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS FCJ (BASE SECA).....	52
TABELA I 4-TEORES DE FIBRA ALIMENTAR DAS FCJ (BASE SECA) .....	53
TABELA I 5- TEORES DE SÓLIDOS SOLÚVEIS E PH DAS FCJ .....	55
TABELA I 6- PARÂMETROS DE CALIBRAÇÃO DOS MODELOS PLS PARA PREDIÇÃO DE FIBRAS ALIMENTARES EM FCJ .....	68
TABELA II 1- PARÂMETROS DE CALIBRAÇÃO DOS MODELOS PARA PREDIÇÃO DE POLIFENÓIS NAS FCJ .....	88
TABELA III 1- RENDIMENTO DAS PRODUÇÕES DE PECTINA.....	103
TABELA III 2- GRAU DE METILESTERIFICAÇÃO DAS PECTINAS .....	105
TABELA III 3- CONTEÚDO DE C3G E ÁCIDO ELÁGICO NAS PECTINAS .....	110
TABELA III 4- PARÂMETROS DE COR DAS PECTINAS.....	111
TABELA III 5- PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DAS PECTINAS.....	112
TABELA III 6- PROPRIEDADES EMULSIFICANTES DAS PECTINAS .....	114
TABELA IV 1- CONTEÚDO DE POLIFENÓIS LIVRES EM FILTRADO PÓS-DIGESTÃO SIMULADA DOS CONTROLES DE FIBRA (BRANCOS) ( $\mu\text{G}/\text{ML}$ ).....	127
TABELA IV 2- CONTEÚDO DE POLIFENÓIS LIBERADOS DOS CONTROLES DE FIBRA (BRANCOS) POR MASSA DE FIBRA ( $\mu\text{G}/\text{MG FIBRA}$ ).....	128
TABELA IV 3- CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DAS FIBRAS CONFERIDA PELOS POLIFENÓIS ADSORVIDOS .....	132
TABELA IV 4- CONTEÚDO DE POLIFENÓIS LIVRES DOS EXTRATOS DE FCJ POR MASSA DE FIBRA NAS MISTURADAS SUBMETIDAS À DIGESTÃO SIMULADA .....	132

## LISTA DE SIGLAS

AE – Ácido elágico

AMT – Antocianinas monoméricas totais

ATR – *Attenuated total reflectance* – reflectância total atenuada

C3G – Cianidina-3-glicosídeo

D3G – Delfinidina-3-glicosídeo

DM – *degree of methyl-esterification* – grau de metilesterificação

EAE – *Enzyme assisted extraction* - extração assistida por enzima

EAG – Equivalente de ácido gálico

EPP – *extractable polyphenols* – polifenóis extraíveis

FAI – Fibra alimentar insolúvel

FAS – Fibra alimentar solúvel

FCJ – Farinha (s) de casca de jabuticaba

FTE – Fenólicos totais extraíveis

FTIR – *Fourier-transform infrared spectroscopy* - infravermelho por transformada de Fourier

HMP – *High methoxyl pectins* – pectina com alto teor de metoxila

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography* – cromatografia líquida de alta eficiência

LMP – *Low methoxyl pectins* – pectina com baixo teor de metoxila

MAE – *Microwave assisted extraction* - extração assistida por micro-ondas

MW – *Microwaves* – micro-ondas

NEPP – *non-extractable polyphenols* – polifenóis não extraíveis

NEPPA – *non-extractable proanthocyanidins* - proantocianidinas não extraíveis

PC – *Principal component* – componente principal

PCA – *Principal component analysis* – análise de componentes principais

PLS – *Partial least squares* - mínimos quadrados parciais

RMSEC – *Root Mean Square Error of Calibration* - raiz do erro quadrático médio da calibração

RMSECV – *Root Mean Square Error of Cross-Validation* - raiz do erro quadrático médio da validação cruzada.

RMSEP – *Root Mean Square Error of Prediction* - raiz do erro quadrático médio da predição

SNV – *Standard Normal Variate* - variáveis normais padrão (padronização normal de sinal)

UAE – *Ultrasound assisted extraction* - extração assistida por ultrassom

UEAE – *Ultrasound-enzyme assisted extraction* - extração assistida por ultrassom e enzima

UMAE – *Ultrasound-microwave assisted extraction* - extração assistida por ultrassom e micro-ondas

UMEAE – *Ultrasound-microwave-enzyme assisted extraction* - extração assistida por ultrassom, micro-ondas e enzima

US – Ultrassom

VL – Variáveis latentes

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS .....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	18
2.1 Jabuticaba e cascas de jabuticaba .....	18
2.2 Fibras alimentares .....	22
2.2.1 Pectina .....	25
2.3 Compostos bioativos antioxidantes.....	27
2.4 Relação entre fibras alimentares e compostos antioxidantes .....	30
2.6 Espectroscopia em infravermelho.....	32
2.5 Quimiometria .....	35
CAPÍTULO 1 .....	40
CARACTERIZAÇÃO DE FARINHAS DE CASCAS DE JABUTICABA ( <i>Plinia spp.</i> ) DE DIFERENTES LOTES E PREDIÇÃO DE COMPOSTOS POR ANÁLISE DE FTIR .....	40
INTRODUÇÃO.....	41
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
2.1 Materiais .....	42
2.2 Métodos.....	44
2.2.1 Produção das farinhas de cascas de jabuticaba (FCJ) .....	44
2.2.2 Análise de cor.....	44
2.2.3 Composição química .....	44
2.2.4 Análises de fenólicos totais extraíveis, fenólicos não extraíveis (proantocianidinas), antocianinas, carotenoides e clorofilas.....	45
2.2.5 Análise de espectroscopia em infravermelho (FTIR) .....	48
2.2.6 Análise estatística.....	48
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
3.1. Preparação da farinha e composição química .....	49
3.2 Conteúdos de fenólicos totais extraíveis, polifenóis não extraíveis, antocianinas, carotenoides e clorofilas .....	56
3.3 Análise de FTIR.....	60
3.4. Avaliação comparativa de dados de FTIR e composição química .....	63
3.5 Modelos quimiométricos (PLS).....	68

4 CONCLUSÕES .....	73
CAPÍTULO 2 .....	74
IDENTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS EM FARINHAS DE CASCAS DE JABUTICABA ( <i>Plinia</i> spp.) DE DIFERENTES LOTES E A PREDIÇÃO POR ANÁLISE DE FTIR .....	74
1 INTRODUÇÃO.....	75
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	77
2.1 Materiais .....	77
2.2 Métodos.....	77
2.2.1 Extração de polifenóis das farinhas de casca de jabuticaba (FCJ).....	77
2.2.2 Análise cromatográfica .....	77
2.2.3 Análise FTIR .....	78
2.2.4 Análise estatística.....	78
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
3.1 Avaliação de polifenóis por cromatografia.....	79
3.2 Distribuição das FCJ - PCA.....	84
3.3 Análise de FTIR.....	87
3.4 Modelos quimiométricos (PLS).....	88
4 CONCLUSÕES .....	92
CAPÍTULO 3 .....	94
FARINHA DE CASCA JABUTICABA ( <i>Plinia</i> spp.) COMO FONTE DE PECTINA: CARACTERIZAÇÃO E EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	94
1 INTRODUÇÃO.....	95
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	97
2.1 Materiais .....	97
2.2 Métodos.....	98
2.3 Caracterização das pectinas .....	100
2.3.1 Análise de FTIR e DM .....	100
2.3.2 Determinação de monossacarídeos neutros.....	100
2.3.3 Conteúdo de compostos fenólicos.....	101
2.3.4 Propriedades tecnológicas .....	101
2.4 Análises estatísticas .....	102
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	102

3.1 Extração das pectinas .....	102
3.2 Caracterização das pectinas .....	103
3.2.1 FTIR e DM .....	103
3.2.2 Monossacarídeos neutros .....	106
3.2.3. Compostos fenólicos .....	109
3.2.4 Propriedades tecnológicas .....	111
5 CONCLUSÕES .....	115
CAPÍTULO 4 .....	116
INTERAÇÃO ENTRE POLIFENÓIS E FIBRAS ALIMENTARES DE FARINHA DE CASCA DE JABUTICABA: AVALIAÇÃO EM DIGESTÃO SIMULADA.....	116
1 INTRODUÇÃO.....	117
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	119
2.1 Materiais .....	119
2.2 Métodos.....	120
2.2.1 Extração e análise cromatográfica de polifenóis da farinha de casca de jabuticaba (FCJ).....	120
2.2.2 Extração da fibra alimentar total (FAT) da FCJ.....	122
2.2.3 Preparação da FAT e da pectina.....	122
2.2.4 Ensaio de adsorção em digestão simulada .....	122
2.2.5 Avaliação da capacidade antioxidante das fibras alimentares antes e após a digestão .....	123
2.2.6 Análise estatística.....	124
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	125
3.1 Interação entre os polifenóis e as fibras alimentares .....	125
3.1.1 Cianidina-3-glicosídeo .....	125
3.1.2 Ácido elágico.....	127
3.2 Capacidade antioxidante das fibras alimentares .....	129
4 CONCLUSÕES .....	135
CONCLUSÕES GERAIS.....	137
REFERÊNCIAS .....	139

## 1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A jabuticaba (*Plinia* spp.) é uma fruta nativa do Brasil, do bioma Mata Atlântica. Em 2017 foram produzidas cerca de 3,5 toneladas da fruta no Brasil (IBGE, 2017), sem incluir a produção para consumo interno e comércio informal. A jabuticaba é uma fruta pequena; com casca fina; de cor roxo escuro a preto e polpa branca, doce e ligeiramente ácida. É consumida fresca ou na forma de geleias, sobremesas e bebidas (SALOMÃO *et al.*, 2018).

As cascas são o principal resíduo do processamento da jabuticaba (30% a 40% da massa da fruta) e caracterizam-se por apresentar altos níveis de compostos bioativos e quantidades significativas de fibras alimentares (BATISTA *et al.*, 2017; QUATRIN *et al.*, 2019). Diferentes compostos antioxidantes, incluindo vários polifenóis e alguns tocoferóis já foram identificados em cascas de jabuticaba (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; DE ANDRADE NEVES *et al.*, 2021; QUATRIN *et al.*, 2019). Além disso, esse tipo de resíduo de processamento de frutas apresenta propriedades interessantes relacionadas à saúde, incluindo atividades antioxidante, anti-inflamatória, antiproliferativa e antimicrobiana. Extratos de casca de jabuticaba já mostraram atuar na prevenção de distúrbios metabólicos e hepáticos associados à obesidade, diabetes e envelhecimento (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; CALLONI *et al.*, 2020; LAMAS *et al.*, 2018; LENQUISTE *et al.*, 2019; PLAZA *et al.*, 2016).

A recuperação de compostos bioativos de resíduos de frutas pode ser caracterizada pelas seguintes etapas, considerando que os alvos de recuperação são micromoléculas de alto valor agregado: pré-tratamento macroscópico; separação de macro e micromoléculas; extração; isolamento e purificação; e formação do produto (GALANAKIS, 2012). No entanto, a exploração lucrativa de resíduos de frutas pode ser realizada com processamento mínimo, empregando apenas uma a duas dessas etapas quando o alvo é a recuperação de macromoléculas, como fibra alimentar e compostos biologicamente ativos associados (por exemplo, polifenóis). Assim, o preparo de farinhas a partir de cascas de jabuticaba pode ser uma estratégia para seu aproveitamento, conservação e aplicação. O uso de farinhas, diferentemente do extrato, permitirá o consumo de fibras alimentares além dos antioxidantes. Além disso, a conversão de cascas de jabuticaba em farinhas reduzirá o conteúdo de água livre, evitando reações químicas e microbiológicas indesejáveis, aumentando a vida útil e a segurança do produto como ingrediente alimentar. Ademais, a desidratação irá concentrar o

conteúdo de compostos bioativos e fibra alimentar do produto final (LEÃO et al., 2017; SOQUETTA et al., 2016).

Entre as fibras alimentares, a pectina é uma fibra solúvel de importância para a indústria de alimentos, por ser usada como agente emulsificante, espessante, intensificador de viscosidade, modificador de textura e estabilizante. Frutas cítricas são as principais fontes de pectinas utilizadas pela indústria e também podem ser extraídas de cascas de jabuticaba, como já demonstrado por Benvenuti *et al.* (2020) e Nascimento *et al.* (2020). Contudo, a composição e, conseqüentemente, as propriedades das pectinas variam conforme a fonte e os métodos de extração. Até o momento, a caracterização de pectinas de cascas de jabuticaba extraídas por métodos alternativos ao de aquecimento convencional, tal como ultrassom, micro-ondas e a combinação com enzimas, ainda não foi divulgada.

Todavia, devido à interação entre as fibras alimentares e os compostos antioxidantes, estudos de bioacessibilidade de polifenóis de resíduos de jabuticaba demonstraram que a maior parte desses compostos não é acessível para absorção pelo intestino delgado. Inada *et al.* (2020) determinaram a porcentagem de bioacessibilidade geral dos compostos fenólicos de um pó produzido a partir de cascas e sementes de jabuticaba em 47%. E Quatrin *et al.* (2020) observaram que a bioacessibilidade das antocianinas de um pó de cascas de jabuticaba foi de apenas 0,08 a 2,3%. Contudo, Inada *et al.* (2020) e Quatrin *et al.* (2020) também observaram que os polifenóis que permaneceram no material não digerível foram extensivamente metabolizados por bactérias intestinais a metabólitos fenólicos que também apresentam atividades biológicas. Portanto, existe um campo de investigação das interações entre os polifenóis e os diferentes componentes das fibras alimentares de cascas de jabuticaba. O conhecimento dessas integrações pode ajudar a prever o comportamento dos compostos em matrizes com diferentes composições de fibras alimentares e compostos fenólicos, uma vez que Phan *et al.* (2017) demonstraram que polissacarídeos específicos apresentam diferentes capacidades de interação com polifenóis.

A variabilidade da composição de cascas de jabuticaba é, portanto, um fator importante de conhecimento, visto que a composição de espécies selvagens varia muito conforme a origem. Diferenças na composição fenólica entre espécies de jabuticaba já foram observadas (NEVES *et al.*, 2021; QUATRIN *et al.*, 2019). Mas a variabilidade da composição centesimal, bem como dos tipos de fibra alimentar, além dos antioxidantes, de amostras de

cascas de jabuticaba de diferentes lotes disponíveis para consumo, seja no comércio e em propriedades privadas, ainda é desconhecida.

Contudo, considerando a complexidade inerente dos produtos alimentícios, a maioria das técnicas instrumentais empregadas para análise de composição (como métodos cromatográficos) demanda tempo, tem custo elevado e envolve uma quantidade considerável de trabalho manual. Portanto, tem havido um interesse crescente em métodos analíticos mais simples e rápidos para avaliar a composição de alimentos, principalmente técnicas espectroscópicas. Esses métodos têm sido amplamente empregados para a análise de produtos alimentícios, uma vez que exigem preparação mínima ou nenhuma das amostras, e fornecem análise rápida e tem o potencial de executar vários testes em uma única amostra (ou seja, não destrutiva) (FRANCA; NOLLET, 2017). Como exemplo, Hu *et al.* (2016) quantificaram e predisseram a capacidade antioxidante, o conteúdo fenólico total e a concentração de catequina de chocolates por FTIR associado ao modelo quimiométrico de regressão de mínimos quadrados parciais (partial least squares - PLS). As análises foram realizadas em um curto espaço de tempo sem qualquer pré-tratamento da amostra, com previsões precisas pelos modelos. Chylińska *et al.* (2016) caracterizaram o conteúdo de fibra alimentar de diferentes tipos de frutas usando FTIR, com previsões satisfatórias dos conteúdos de celulose, hemiceluloses e pectinas nas paredes celulares das frutas.

Portanto, os objetivos deste estudo foram investigar a composição química (centesimal, fibras alimentares e antioxidantes) de diferentes lotes de farinhas de casca de jabuticaba, por técnicas convencionais e FTIR, e avaliar a viabilidade de desenvolver modelos de predição para que, por simples análise de FTIR, possa-se direcionar a farinha de casca de jabuticaba para uma aplicação adequada. Além de avaliar o potencial de extração de pectina de farinha de casca de jabuticaba pela combinação dos métodos de ultrassom, micro-ondas e/ou enzimas. E investigar as interações entre fibras alimentares e polifenóis extraídos de casca de jabuticaba em um sistema de digestão *in vitro*.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Jabuticaba e cascas de jabuticaba**

A jabuticaba ou também grafada como “jaboticaba” é a fruta da jabuticabeira, árvore da família Myrtaceae (Figura 1). O nome “jabuticaba” é de origem indígena, formado pela junção das palavras “*jabuti*” (referente ao réptil) e “*caba*” (que significa “lugar”); assim, a palavra “jabuticaba” origina-se de “lugar onde se encontra jabuti” e faz referência à presença desses animais próximos a jabuticabeiras, por se alimentarem de seus frutos (SALOMÃO *et al.*, 2018).

**Figura 1- Jabuticabeira e frutos de jabuticaba maduros**



**Fonte: A autora.**

Botanicamente, “jabuticaba” é o nome usado para diferentes espécies da fruta, sem um consenso quanto a essa classificação. De acordo com Salomão *et al.* (2018), existem nove espécies de jabuticaba, entre essas, *Plinia jaboticaba* (Vell.) Kausel, popularmente conhecida como “jabuticaba Sabará” e *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, cujo nome popular é “jabuticaba Paulista”. Já de acordo com a plataforma de consultas The Plant List (2013), elaborada com apoio do Royal Botanic Garden Edinburgh, The New York Botanical Garden, Missouri Botanical Garden e outros colaboradores, *Plinia jaboticaba* (Vell.) Kausel é um sinônimo de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel, o nome oficialmente aceito e registrado.

De acordo com a plataforma "Flora do Brasil", a jabuticaba é uma espécie endêmica do Brasil, nativa da mata atlântica e encontrada nos estados brasileiros do Sudeste, mais Bahia, Pernambuco e Paraná. A maior parte da produção de jabuticabas é doméstica e, ainda, parte do consumo é de frutas nativas de matas ciliares à margem de rios, onde o extrativismo é praticado. Apenas uma pequena parcela das frutas consumidas é oriunda de plantio comercial que, de acordo Salomão *et al.* (2018), é inviabilizado pela falta de cultivares melhorados, pelo longo período juvenil e pelo curto período de colheita e conservação pós-colheita. Segundo Alezandro *et al.* (2013), as espécies popularmente conhecidas por Sabará e Paulista são as mais comuns e cultivadas para uso comercial, enquanto as demais espécies têm cultivo apenas doméstico ou se desenvolvem naturalmente em seu *habitat* original. De acordo com os dados da CONAB (2015), em 2014 foram comercializadas 3,35 mil toneladas de jabuticaba fresca. Contudo, esse valor deve ser consideravelmente maior, visto que grande parte da comercialização da fruta é feita pelo mercado informal em feiras livres e à margem de rodovias.

De acordo com Salomão *et al.* (2018), a jabuticabeira da espécie Sabará tem cerca de 6 a 9 metros de altura e sua fruta é uma baga globosa; com menos de 3 cm de diâmetro; casca de cor preta, fina e frágil, quando madura; de polpa branca, gelatinosa e muito doce, quando madura, contendo de 1 a 4 sementes.

A jabuticaba é consumida em sua forma natural ou em receitas de sorvete, iogurte, vinho e geleia, sendo esta seu principal produto. Na fabricação desses alimentos, cascas e sementes são, geralmente, descartadas, gerando volumes consideráveis de resíduos, visto que as cascas representam em média 33% da massa das frutas da espécie Paulista e 43% da Sabará (LIMA *et al.*, 2008). As cascas de jabuticaba são conhecidas fontes de fibras e compostos bioativos. Inada *et al.* (2015) encontraram mais fibras alimentares (38,8g/100g) e conteúdo de compostos fenólicos (2252 mg/100 em base seca) nas cascas de jabuticaba que em sua polpa, sementes e no fruto inteiro. A cor preta das cascas indica a presença de grande quantidade de antocianinas, que foi confirmada por diferentes trabalhos (BATISTA *et al.*, 2014; NEVES *et al.*, 2021; LENQUISTE *et al.*, 2015; QUATRIN *et al.*, 2019; SERAGLIO *et al.*, 2018). Assim, considerando a importância nutricional das cascas de jabuticaba, destaca-se que esse resíduo apresenta características promissoras para ser aproveitado para a alimentação humana.

Os efeitos para a saúde das cascas de jabuticaba têm sido investigados e apresentam resultados promissores. Em estudo *in vitro* e experimental, Leite-Legatti *et al.* (2012)

identificaram efeitos antiproliferativos contra a leucemia de um extrato polar de cascas de jabuticaba, sem provocar danos no DNA e efeitos mutagênicos em camundongos. Alezandro, Granato e Genovese (2013) observaram redução de 32% do colesterol total e 50% do triacilglicerol, além do aumento da atividade antioxidante plasmática em 2 e 2,5 vezes, em ratos diabéticos alimentados por 40 dias com 1,0 e 2,0 g de casca de jabuticaba (peso seco) / kg de peso corporal. Batista *et al.* (2014) induziram a obesidade por dieta hiperlipídica em ratos e notaram a redução da peroxidação lipídica no fígado e no cérebro, além de aumento das defensas antioxidantes, com a ingestão de 1, 2 e 4% de cascas de jabuticaba liofilizadas. Em um estudo clínico piloto, Plaza *et al.* (2016) observaram maior capacidade antioxidante sérica e redução sérica da insulina, 4 horas após a ingestão de uma segunda refeição contendo 27,6 g de pó de casca de jabuticaba liofilizada, em indivíduos saudáveis. Redução da resistência à insulina periférica e preservação de funções cognitivas, que são prejudicadas por esta, além de redução do ganho de peso, também foram observadas por Batista *et al.*, (2018) em camundongos com obesidade e resistência à insulina induzidas por dieta hiperlipídica, que receberam uma dieta com 4% de cascas de jabuticaba. Em outro estudo, um extrato de cascas de jabuticaba demonstrou melhora da sensibilidade à insulina, redução do colesterol total e LDL, melhora do HDL e redução da esteatose hepática e inflamação em camundongos envelhecidos, alimentados com alto teor de gordura, conforme descrito por Lamas *et al.* (2018). Extratos de cascas de jabuticaba também preveniram a obesidade e altas concentrações de glicose sérica de jejum, além de atenuar a hiperinsulinemia, em camundongos alimentados com dieta rica em sacarose, especialmente um extrato com altas concentrações de taninos, conforme relatam Moura *et al.* (2018). Efeitos no sistema imunológico de ratos com diabetes mellitus induzida também foram observados pela administração de extrato de casca de jabuticaba, que impediu a redução da contagem total de leucócitos e linfócitos (CALLONI *et al.*, 2020). Em estudo clínico, o extrato fenólico de casca de jabuticaba presente em uma bebida a base de proteína de soro de leite aumentou a capacidade antioxidante plasmática de atletas de futebol, auxiliando na atenuação do estresse oxidativo em indivíduos treinados (FERREIRA *et al.*, 2020).

Esses benefícios observados com a ingestão das cascas de jabuticaba ou de seus extratos foram atribuídos, principalmente, aos compostos fenólicos (proantocianidinas, elagitaninos, antocianinas e outros) e, também, às fibras alimentares. Aos compostos fenólicos são atribuídas atividades de inibição de enzimas digestivas e de transportadores de glicose da

membrana intestinal, além de atividades fora do intestino, quando seus metabólitos são absorvidos (PLAZA *et al.*; 2016; MOURA *et al.*; 2018).

Pelos diferentes benefícios encontrados nas cascas de jabuticaba, a incorporação dessas à alimentação humana precisa ser mais investigada. Uma etapa importante é a avaliação das propriedades tecnológicas das cascas de jabuticaba, bem como de alimentos enriquecidos com elas. Baldin *et al.* (2016) usaram extrato de casca de jabuticaba como corante natural com atividades antioxidante e antimicrobiana em salsichas e observaram que nas concentrações de 2 e 4%, os extratos reduziram a oxidação lipídica durante 15 dias de armazenamento e diminuíram a contagem de micro-organismos; sendo que a concentração de 2% não prejudicou os atributos sensoriais de textura e aceitação global, apresentando apenas ligeira redução na aceitação da cor. E Oliveira, Alencar e Steel (2018) incorporaram pó de casca de jabuticaba em cereais matinais extrusados a base de milho e observaram que a proporção de 10% conferiu cor e sabor, sem prejudicar as características tecnológicas do produto, que teve a aceitabilidade geral aumentada pelo acréscimo das cascas.

Contudo, em uma revisão sobre a composição e os benefícios da jabuticaba, Wu, Long e Kennelly (2013) destacaram a necessidade de investigações sobre os metabólitos secundários da fruta, pesquisas com outros tecidos da planta, mais estudos clínicos, desenvolvimento de aprimoramento dos métodos de armazenamento e melhoramento genético e uso de ferramentas genômicas para a melhoria da cultura, a fim de que a fruta, que é bastante perecível, possa ser amplamente consumida e reconhecida no mundo.

## **2.2 Fibras alimentares**

De acordo com o Codex Alimentarius (2008, 2009), fibras alimentares são polímeros de carboidratos não hidrolisáveis pelas enzimas endógenas do intestino delgado que, se derivadas de plantas, podem incluir, frações de lignina e/ou outros compostos associados aos polissacarídeos na parede celular, desde que estes não sejam extraídos e reintroduzidos nos alimentos.

O conceito de fibra alimentar vem evoluindo ao longo do tempo e pode apresentar diferenças de acordo com autores e as legislações dos países. Mas um fator comum é que as

fibras são formadas, principalmente, pelos carboidratos da parede celular das plantas. Nos vegetais, a parede celular é importante para o suporte mecânico, estrutura e forma, atuando como uma barreira de defesa. É formada por polissacarídeos complexos em quantidades que variam conforme a espécie vegetal e a função da célula, incluindo celulose, hemiceluloses e polissacarídeos pécnicos (WROLSTAD, 2012).

Assim, os compostos que podem ser encontrados nas fibras alimentares são: polissacarídeos não amido (celulose, hemiceluloses, pectinas, gomas e mucilagens); lignina; carboidratos análogos (amido resistente e maltodextrinas resistentes); oligossacarídeos (frutanos); compostos associados aos polissacarídeos (fenólicos, carotenoides, fitosteróis, proteínas da parede celular, ceras, cutina e suberina) e fibras de origem animal (quitosana, quitina, colágeno e condroitina) (DHINGRA et al., 2012).

As fibras alimentares são classificadas de diferentes maneiras, a mais clássica é de acordo com a solubilidade em um tampão e pH definidos e quanto ao seu poder de fermentação em uma solução aquosa de enzimas correspondentes às humanas, sendo divididas em: solúveis, quando solúveis em água e mais fermentadas (pectinas, algumas hemiceluloses e gomas e mucilagens) e insolúveis, quando insolúveis em água e menos fermentadas (celulose, parte das hemiceluloses e lignina) (DHINGRA *et al.*, 2012).

A celulose é o principal componente da parede celular dos vegetais e trata-se de um homopolímero linear, de elevada massa molecular, formado por unidades repetidas de  $\beta$ -D-glicopiranosil, unidas por ligações glicosídicas  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) (Figura 2 (A)). Devido à sua natureza plana e linear, as moléculas de celulose associam-se umas às outras por ligações de hidrogênio em extensas zonas, formando maços fibrosos e policristalinos; zonas amorfas separam e conectam as zonas cristalinas (WROLSTAD, 2012).

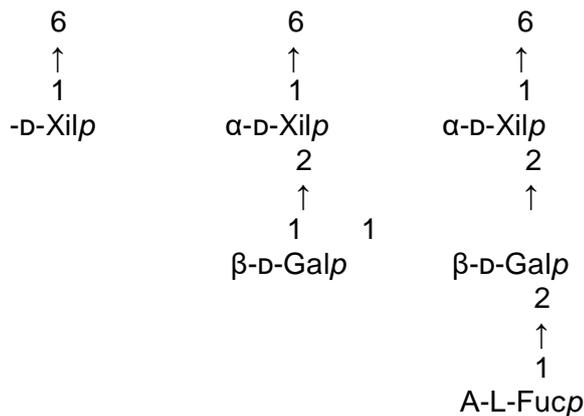
As hemiceluloses são formadas por unidades de monossacarídeos (glicose e outros como xilose, galactose, manose e arabinose também podem estar presentes) ligados por ligações 1 $\rightarrow$ 4, geralmente com cadeias ramificadas, porém menores que a celulose. Entre as hemiceluloses, as xiloglucanas (Figura 2 (B)) são as mais abundantes em frutas e hortaliças, são formadas por ligações de glicose  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4), e três de cada quatro glicoses têm uma xilose ligada na posição C-6, formando cadeias laterais. Galactose, fucose e outros monossacarídeos também podem ser encontrados nas cadeiras laterais de xiloglucanas (WROLSTAD, 2012).

**Figura 2- Estrutura de celulose e de xiloglucana**

**A) Celulose**



**B) Xiloglucana**



**Fonte: Adaptado de WROLSTAD (2012).**

As pectinas são encontradas nas paredes celulares e nas camadas intercelulares dos vegetais, cuja estrutura principal e fundamental é uma cadeia linear de unidades de ácido galacturônico, intercaladas com ramnose, podendo conter cadeias laterais com outros monossacarídeos. Comumente, a pectina é extraída dos vegetais para utilização pela indústria alimentícia na produção de geleias e sucos e para melhorar a textura de hortaliças congeladas e enlatadas. As propriedades e composição das pectinas variam conforme sua fonte, processo de extração e tratamentos dados e, por esse motivo, “pectina” se refere a um grupo de compostos (WROLSTAD, 2012; DHINGRA *et al.*, 2012). Dada sua importância para a indústria de alimentos, um subitem foi destacado para sua discussão.

Diferentes métodos estão disponíveis na literatura para a análise de fibras alimentares. Esses métodos vêm sendo modificados, conforme se atualiza o conceito de fibra alimentar e novas técnicas são incorporadas ao mercado. Sendo que o método enzimático gravimétrico de análise de fibra alimentar, que simula as condições de digestão do organismo humano é o

mais indicado para este tipo de análise. Mas, mesmo ele, apresenta diferentes versões. Os métodos clássicos analisavam apenas as fibras de alta massa molecular, calculando fibra alimentar total ou suas frações insolúvel e solúvel. O avanço foi o desenvolvimento de métodos que também avaliam as fibras de baixa massa molecular (como inulina e fruto-oligossacarídeos, por exemplo). Porém, ainda há muitas discussões em torno desses métodos, devido a sobreposições de técnicas e esforços têm sido feitos para aperfeiçoar as análises. No entanto, os compostos bioativos ligados a carboidratos, ainda não são considerados pelos métodos usuais de determinação de fibra alimentar, embora os muitos estudos relatem sua importância (MACAGNAN; BENDER; SPERONI, 2018).

As fibras alimentares são importantes para a saúde humana. Entre muitas funções, contribuem para as sensações de saciação e saciedade por promoverem distensão abdominal e retardarem o esvaziamento gástrico; contribuem para redução do colesterol plasmático, devido sua capacidade de adsorção de compostos; fornecem substrato para microbiota, promovem sua modulação; fornecem ácidos graxos de cadeia curta, que são substratos para as células da parede intestinal, a partir de sua fermentação; e diminuem a exposição a produtos tóxicos (DHINGRA *et al.*, 2012). Efeitos metabólicos como controle glicêmico e melhora da sensibilidade à insulina devido às funções das fibras alimentares já foram reportados (MAO *et al.*, 2021).

### 2.2.1 Pectina

Quimicamente, a pectina é um polissacarídeo aniônico composto principalmente por unidades de ácido d-galacturônico covalentemente ligadas por  $\alpha$ -1,4. Faz parte da estrutura de vegetais e constitui aproximadamente um terço das paredes celulares de plantas dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas. Pode ser encontrada em três formas poliméricas chamadas de domínios (CHAN *et al.*, 2017; DRANCA; OROIAN, 2018; MARIC *et al.*, 2018):

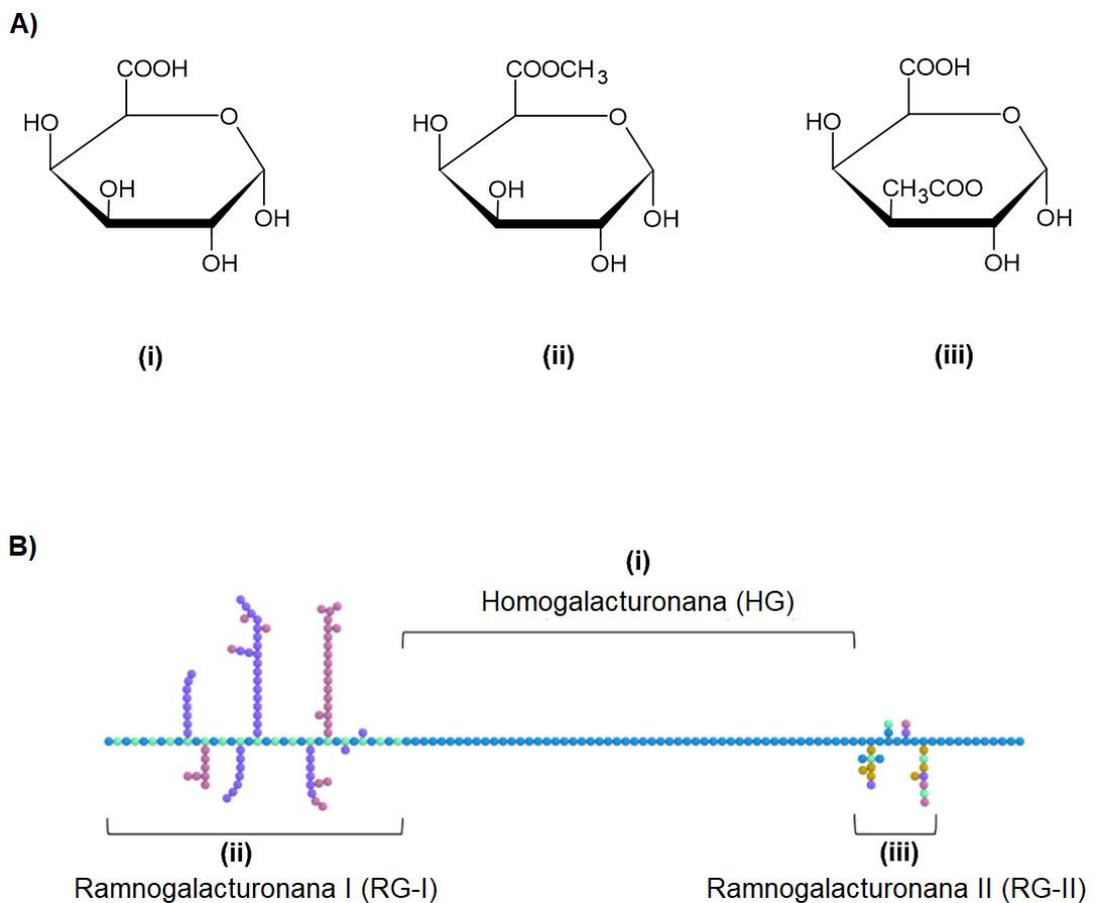
1. Homogalacturonana (HG): um polímero linear de ácido galacturônico (GalA) ligado por  $\alpha$ - (1-4);
2. ramnogalacturonana I (RG-I): um dissacarídeo de repetição de  $\alpha$ -1,2-ligado-L-ramnose- $\alpha$ -1,4-D-GalA com várias cadeias laterais do L-ramnosil que pode ser

substituído por açúcar neutro (galactose, arabinose, glicose, manose, fucose e xilose) e ácido glucurônico;

3. ramnogalacturonana II (RG-II): uma estrutura homogalacturonana de cerca de nove unidades GalA ligadas por  $\alpha$ -1,4 com quatro cadeias laterais de monossacarídeos diferentes, incluindo açúcares raros, anexados.

Os resíduos de ácido galacturônico na cadeia contínua de poli (GalA) de HG podem ser metilesterificada (em C-6) e/ou *O*-acetil-esterificada (em O-3 e / ou O-2). Na Figura 3 podem ser vistas as formas de GalA encontradas na pectina e uma ilustração dos principais domínios encontrados na maioria das pectinas.

**Figura 3 – Ácido galacturônico e domínios pécticos**



**A.** Formas de ácidos galacturônicos (GalA) encontrados na pectina: (i) GalA, (ii) GalA metilado e (iii) GalA *O*-acetilado. **B.** Cadeia de pectina com ligações covalentes de (i) homogalacturonana (HG), (ii) ramnogalacturonana I (RG-I) e (iii) ramnogalacturonana II (RG-II).

**Fonte: Adaptado de Chan *et al.* (2017).**

Pectinas com alto teor de metoxila (*high methoxyl pectins* - HMP) são pectinas que apresentam grau de metilesterificação (*degree of methyl-esterification* - DM) maior ou igual a 50% e formam géis em altas concentrações de açúcar (55-75%) e sistemas ácidos (pH 2,50-3,50); e pectinas com baixo teor de metoxila (*low methoxyl pectins* - LMP) são aquelas com DM menor que 50% e formam géis na presença de íons divalentes como o  $\text{Ca}^{2+}$ , em uma ampla faixa de pH (2–6). As pectinas obtidas na indústria de alimentos são principalmente HMPs; as LMPs ocorrem naturalmente nos vegetais, mas geralmente são obtidas a partir de HMP por desesterificação ácida, alcalina e/ou enzimática (CHAN *et al.*, 2017; DRANCA; OROIAN, 2018; MARIC *et al.*, 2018).

Pectina com alto teor de metoxila é usada como agente gelificante, emulsificante, espessante e estabilizador na produção de geleias. E pectina com baixo teor de metoxilas é, geralmente, usada como substituto de gordura em sorvetes e preparação de frutas para iogurte, por exemplo; na formação de géis em produtos isentos de sacarose; e também em embalagens comestíveis e encapsulamento (CHAN *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2020; MARIC *et al.*, 2018).

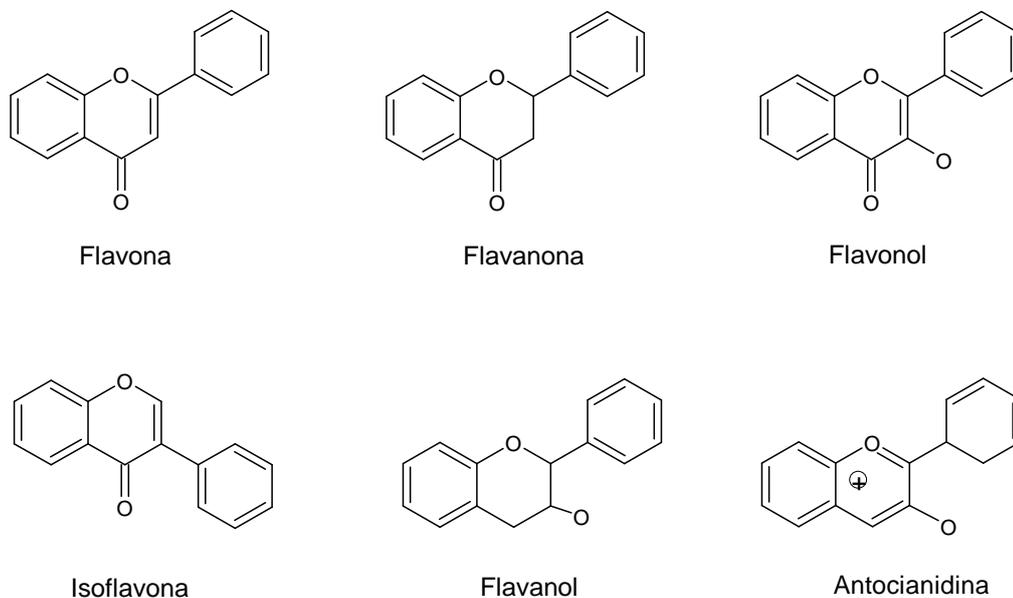
### **2.3 Compostos bioativos antioxidantes**

Compostos bioativos antioxidantes compreendem compostos de várias classes, que atuam na promoção da saúde e na prevenção e, também, no controle de doenças. De origem vegetal, em grande maioria, são compostos produzidos pelo metabolismo secundário dos vegetais, responsáveis por seu sistema de defesa.

Os compostos fenólicos são uma grande classe de compostos formados por anéis fenólicos desprovidos de qualquer grupo funcional à base de nitrogênio. De acordo com Quideau *et al.* (2011), os polifenóis são antioxidantes de quebra de cadeia, uma vez que atuam interferindo na etapa de propagação radicalar, em que o grupo funcional fenol tem a capacidade de doar um átomo de hidrogênio ou um elétron único para um radical livre. Os polifenóis podem ser flavonoides (flavonas, flavononas, flavonolóis, isoflavonas, flavonóis e antocianinas) (Figura 4); ácidos fenólicos, lignanas, proantocianidinas, taninos hidrolisáveis e outros.

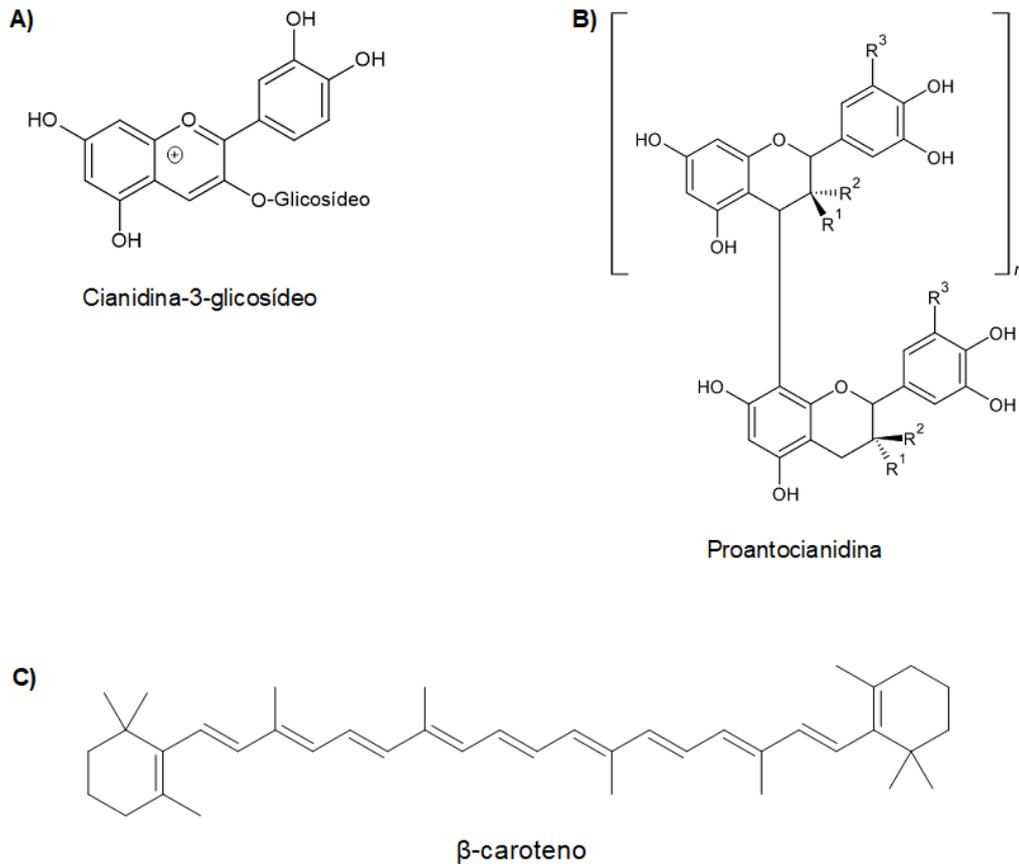
Os flavonoides são substâncias amplamente encontradas nos vegetais, com uma variedade muito grande de compostos, sendo milhares de ocorrência natural. As antocianinas são um subgrupo dos flavonoides conhecidas por conferir cores como roxo, violeta, magenta, vermelho e alaranjado às plantas. A cor depende da presença e do número de substituintes ligados à molécula. A estrutura básica das antocianinas é o esqueleto C6-C3-C6 (cátion flavílio), consistindo em uma antocianidina (unidade de aglicona) ligada a um açúcar, geralmente na posição 3 no anel C, e grupos metoxila e hidroxila. Na Figura 5 (A) pode ser vista a estrutura da cianidina-3-glicosídeo. As antocianinas diferem entre si pelo número de grupos hidroxila e/ou nos grupos metoxi, números, tipos, sítios de ligação dos açúcares e tipos e números de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados aos açúcares presentes na molécula. A glicose é o monossacarídeo mais comuns nas moléculas de antocianinas, mas arabinose, galactose, ramnose e rutinose também já foram identificadas. Entre as 23 antocianidinas de ocorrência natural já registradas, cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina e petunidina são as comumente encontradas em alimentos. Em relação às antocianinas, mais de 500 já foram identificadas em vegetais, sendo que as plantas podem conter misturas delas, com proporções que variam conforme o tipo de cultivo e maturidade (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; FERNANDES et al., 2014; MOHAMMADALINEJHAD; KUREK, 2021).

**Figura 4 - Estruturas de flavonoides**



**Fonte: A autora.**

**Figura 5 - Estruturas de antocianina, proantocianidina e caroteno**



Fonte: A autora.

As proantocianidinas (taninos condensados) são outro grupo de compostos fenólicos. Estruturalmente são oligo ou polímeros de flavan-3-óis monoméricos. Na Figura 4(B) pode ser vista a estrutura da proantocianidina C1. Compostos de duas a oito unidades interagem com proteínas, conferindo adstringência aos alimentos. A formação de complexos tanino-proteína tem sido associada a fator antinutricional quando os taninos se encontram em quantidades mais elevadas. Contudo, outros estudos também têm apontado efeitos benéficos das proantocianidinas para a saúde, como antioxidante, anticancerígeno, antidiabético, neuroprotetor e antimicrobiano (DIXON; SARNALA, 2020; RAUF et al., 2019; YU et al., 2020a).

Os carotenoides são outra classe de compostos bioativos antioxidantes e parte deles exerce função de pró vitamina A, como o  $\beta$ -caroteno. São importantes pigmentos cujas cores variam do amarelo ao vermelho. Os carotenoides são divididos em dois grupos: carotenos,

formados por cadeia de hidrocarboneto (como  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e licopeno) e xantofilas, que são compostos oxigenados (exemplos são a luteína e zeaxantina). Mais de 750 estruturas já foram identificadas em produtos naturais. Geralmente, os carotenoides são tetraterpenoides C<sub>40</sub>, compostos de 8 unidades isoprenoides, ligados de tal forma que a molécula é linear e simétrica. Algumas estruturas contêm grupos cíclicos terminais e outras, uma ou nenhuma ciclização. Na figura 5(C) está representada a estrutura do  $\beta$ -caroteno. Como antioxidantes, os carotenoides são conhecidos por desativar o oxigênio singlete, que é uma espécie altamente reativa de oxigênio produzido na presença de oxigênio, luz e fotossensibilizadores. Desse modo, os carotenoides são importantes protetores dos vegetais contra danos oxidativos celulares. Além disso, os carotenoides ainda inibem a peroxidação lipídica sob baixas pressões de oxigênio. (ELVIRA-TORALES; GARCÍA-ALONSO; PERIAGO-CASTÓN, 2019; SAINI; NILE; PARK, 2015).

## 2.4 Relação entre fibras alimentares e compostos antioxidantes

Saura-Calixto (1998) propôs que materiais ricos em fibras alimentares e antioxidantes naturais a elas associados constituem um novo produto, a que chamou de “fibras alimentares antioxidantes”. O termo foi bem aceito e bastante citado na literatura. A compreensão de que compostos antioxidantes interagem com os polissacarídeos das paredes celulares e, assim, atingem o cólon junto delas, expandiu o conceito para a possibilidade de uma nova classificação das fibras alimentares.

O conceito de fibra alimentar proposto pelo Codex Alimentarius (2008 e 2009) considera os compostos naturalmente associados aos polissacarídeos da parede celular como constituintes das fibras. Esse conceito não apenas chama a atenção para interações entre compostos antioxidantes e fibras, mas, principalmente, considera esses compostos como parte das fibras alimentares.

Entre os compostos antioxidantes que interagem ou fazem parte das fibras, se destacam os polifenóis. Originalmente, eles podem estar presentes no interior das células vegetais ou na parede vegetal. De acordo com Quirós-Sauceda *et al.* (2014), os compostos fenólicos possuem anéis aromáticos hidrofóbicos e grupos de hidroxilas hidrofílicos, que têm a capacidade de se ligarem a polissacarídeos e proteínas em diferentes locais da superfície da parede celular. A interação entre fenólicos e polissacarídeos pode ocorrer também durante o

processamento dos alimentos e no processo gastrointestinal. Assim, fenólicos que originalmente estiverem no interior das células, com o rompimento destas durante o processamento ou na digestão, poderão também se associar aos polissacarídeos da parede celular (RENARD; WATRELOT; LE BOURVELLEC, 2017).

Goñi *et al.* (2009) demonstraram que os polifenóis associados aos polissacarídeos podem corresponder a significativos valores de massa das fibras alimentares. Analisando frutas e hortaliças em diferentes formas de preparo, os autores encontraram de 1,4 a 50,7% do peso seco da fibra alimentar insolúvel constituídos pelos fenólicos. E, ainda, de 2,9 a 62,8% da fibra solúvel em bebidas comuns. Esses valores são bastante significativos e têm sido desprezados nas avaliações de fibras alimentares (MACAGNAM *et al.*, 2016).

Os taninos são os principais grupos de polifenóis associados à parede celular. Sua associação com proteínas é alvo de discussões sobre perda de qualidade nutricional. Todavia, a compreensão sobre sua ligação com os polissacarídeos abriu espaço para outras discussões. Pérez-Jiménez, Díaz-Rubio e Saura-Calixto (2013) destacaram a importância dos chamados polifenóis não extraíveis. Esses compostos correspondem a macromoléculas fenólicas, como as proantocianidinas de alta massa molecular, que não são obtidos em extrações convencionais com solventes químicos e que, ligados à parede celular atingem o cólon e sofrem ação da microbiota, sendo metabolizados a compostos menores, que são absorvidos ou atuam como antioxidantes *in loco*. Anteriormente, outras funções biológicas dos fenólicos associados às fibras alimentares já haviam sido descritas, Saura-Calixto (2011) já havia discutido a importância dos polifenóis na modulação da microbiota intestinal, um assunto de grande interesse atual, envolvendo a prevenção e tratamento de diferentes doenças.

As interações entre compostos antioxidantes e os polissacarídeos da parede celular foram, então, avançando e trabalhos passaram a investigar compostos específicos. Como o estudo de Çelik e Gökmen (2014), que identificaram a interação entre antioxidantes ligados a fibra alimentar insolúvel e antioxidantes extraíveis, demonstrado que estes podem aumentar a capacidade antioxidante das fibras. E de Phan *et al.* (2017), que investigaram a seletividade de polifenóis e componentes da parede celular, tendo observado que a catequina tem preferência por se ligar à celulose em detrimento de xiloglucana e arabinoxilana; e que a pectina carregada negativamente apresenta mais ligações com cianidina-3-glicosídeo carregado positivamente e menos com ácido ferúlico carregado negativamente.

Embora os diferentes esforços de pesquisa na área, Renard (2017), em uma revisão sobre o assunto, ainda aponta para a necessidade de se pesquisar mais essas interações, uma vez que as paredes celulares apresentam diferenças de constituição entre os vegetais e os estados de desenvolvimento da planta, citando, ainda, a escassez de estudos sobre a porosidade das paredes celulares e as transformações dessas com os diferentes processamentos dos alimentos.

Renard (2017), porém, conclui que a primeira década do século XXI presenciou uma maior conscientização das interações existentes entre os antioxidantes e a parede celular. E resume os estudos das interações descrevendo que essas podem ocorrer durante o processamento dos alimentos, quando a parede limita a capacidade de extração dos antioxidantes; durante a digestão, quando os polissacarídeos das paredes celulares limitam a bioacessibilidade ou durante a fermentação no cólon, quando ambos sofrem modificações pela microbiota intestinal e pode ocorrer absorção e proteção.

## **2.6 Espectroscopia em infravermelho**

A espectroscopia no infravermelho tem ampla aplicação e vem sendo bastante utilizada na caracterização de alimentos. A energia infravermelha corresponde à região do espectro eletromagnético na faixa de  $14000$  a  $200\text{ cm}^{-1}$ , que é dividida em três: infravermelho próximo ( $14000$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$  ou  $714$  a  $2500\text{ nm}$ ), médio ( $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  ou  $2500$  a  $25000\text{ nm}$ ) e distante ( $400$  a  $10\text{ cm}^{-1}$  ou  $25000$  a  $1 \times 10^6\text{ nm}$ ) (BUREAU; COZZOLINO; CLARK, 2019).

Uma vez que a radiação infravermelha possui maior comprimento de onda que a radiação ultravioleta, ela possui menor energia, que é suficiente para provocar alterações vibracionais ou rotacionais nas moléculas, sem provocar danos nem transições eletrônicas. As alterações vibracionais podem ser de deformação axial (ou estiramento) e deformação angular. Na deformação axial, a ligação entre os átomos sofre estiramentos ou compressões e pode ser simétrica ou assimétrica. Na deformação angular, ocorrem mudanças nos ângulos entre as ligações e, nesse caso, é chamada de deformação angular no plano; quando a mudança ocorre no ângulo entre o plano em que estão as ligações e um plano de referência, é chamada de deformação angular fora do plano (BARBOSA, 2007).

Na região do infravermelho médio, adotado neste trabalho, normalmente são observadas bandas de absorção e não linhas, o que acontece porque, para cada mudança de nível vibracional, estão associadas várias transições rotacionais. Assim, um espectro de infravermelho médio é constituído por bandas, representadas em um gráfico de porcentagem de transmitância ou valores de absorbância versus o número de onda em  $\text{cm}^{-1}$ . Sendo o número de onda o inverso do comprimento de onda em cm (BARBOSA, 2007).

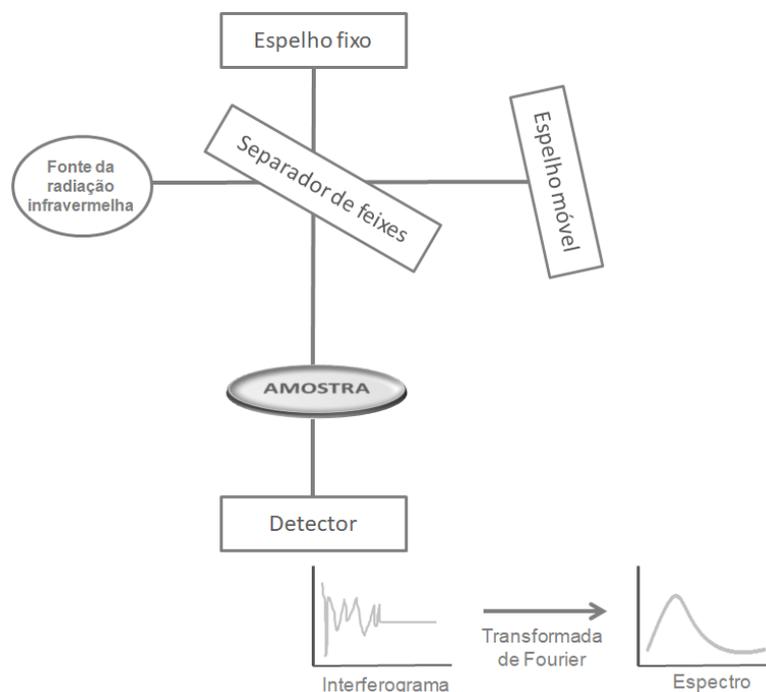
Um espectro de infravermelho pode ter várias bandas e a interpretação de todas nem sempre é possível. Mas por conter muita informação sobre os compostos presentes em um material, a técnica pode ser usada para a análise qualitativa de grupos funcionais, cujos modos característicos de vibração culminam em bandas em frequências específicas, mas que podem ser influenciadas pela presença de grupos orgânicos próximos (ROHMAN; MAN, 2010).

A análise de espectroscopia em infravermelho é realizada em um espectrofotômetro no infravermelho. Os equipamentos mais modernos são os espectrofotômetros no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, a sigla em inglês), que possuem como componente óptico básico o interferômetro de Michelson, que são dois espelhos planos, perpendiculares entre si, sendo um fixo e outro móvel. Um terceiro espelho, chamado separador de feixes, fica alinhado com a fonte de radiação que, quando o atinge, metade dela é transmitida para o espelho móvel e a outra metade é refletida no espelho fixo. Os dois raios, então, são refletidos e retornam ao separador de feixes, onde se recombinam e sofrem interferência. Metade dessa radiação é refletida à fonte. O raio que sai do separador em direção à amostra, e depois segue para o detector, é a radiação transmitida. Uma diferença de caminho óptico é produzida pela movimentação do espelho móvel e trata-se do retardo óptico, que ocorre porque a radiação precisa percorrer uma distância até o espelho e outra para retornar à posição inicial do espelho. Para uma análise do tipo, primeiramente, é feito um *background* (fundo), que é um interferograma sem amostra. Então, a amostra deve ser colocada entre o detector e o interferômetro. A amostra, então, absorverá alguns comprimentos de onda que terão a intensidade diminuída. A transformação de Fourier, um processamento de matemático, é aplicada nos interferogramas, transformando-os em espectros no domínio de frequência comumente trabalhada. O espectro do *background* é, então, subtraído do espectro da amostra, gerando o espectro de trabalho (BARBOSA, 2007). Na Figura 5 está representado um esquema do espectrofotômetro FTIR.

Os espectros podem ser obtidos por transmissão ou reflectância. Os de reflectância são úteis para amostras de difícil preparo, como os alimentos. Com os diferentes tipos de acessórios de reflectância disponíveis no mercado, é possível analisar as mais diferentes matrizes por técnicas simples, que não envolvem preparo trabalhoso das amostras. A reflectância total atenuada (ATR, sigla em inglês) tem sido bastante usada e consiste em uma técnica em que a radiação não é guiada através da amostra, mas de um cristal com alto índice de refração, que está em contato com a amostra. Com essa técnica, a reprodutibilidade é aumentada, uma vez que as dimensões da amostra não afetam o caminho óptico (MELLING; THOMPSON, 2002).

Pela revisão de Bureau *et al.* (2019), é possível notar a importância da espectroscopia FTIR de comprimento médio para a análise de vegetais. Muitos estudos têm sido feitos nos últimos anos valendo-se da técnica para identificação de adulteração, caracterização e quantificação de compostos em uma ampla gama de alimentos. A quimiometria tem sido mostrada como uma importante ferramenta aliada para esses estudos. Entre as vantagens desses testes estão a rápida obtenção de resultados, custos reduzidos, dispensa de solventes e não geração de resíduos.

**Figura 6 - Esquema de um espectrofotômetro FTIR**



**Fonte: Adaptado de Barbosa (2007).**

## 2.5 Quimiometria

De acordo com a definição original da Sociedade de Quimiometria, citada por FERREIRA (2015), “*a quimiometria é a aplicação de ferramentas matemáticas e estatísticas à química*”. Para a IUPAC ([s.d.]) (traduzido), “*quimiometria é a aplicação de estatística para a análise de dados químicos (de química orgânica, analítica ou medicinal) e o planejamento de experimentos químicos e simulações*”.

A análise multivariada dos dados químicos por meio da quimiometria tem sido ferramenta importante na análise de alimentos. Sem a quimiometria muitas informações ficariam perdidas no grande amontoado de dados, sem que se conseguisse extrair associações e respostas.

Dentro deste universo de análises, a quimiometria pode ser usada para análises qualitativas e quantitativas. Conforme exemplificam Granato *et al.* (2018), identificar a origem geográfica de uma amostra com base em espectros de RMN é um exemplo típico de análise qualitativa. E a avaliação da correlação entre o teor de um composto e a atividade antioxidante de uma dada amostra representa uma análise quantitativa. Dada essa separação, os métodos estatísticos multivariados podem ser divididos em métodos exploratórios (análise de componentes principais – PCA, sigla usada em inglês; e análise de agrupamentos por métodos hierárquicos – HCA, sigla usada em inglês); de classificação (*soft independent modeling by class analogies* – SIMCA; análise discriminante linear – LDA, sigla usada em inglês; método dos *k*-ésimos vizinhos mais próximos – KNN, sigla usada em inglês; e análise discriminante pelo método de quadrados mínimos parciais – PLS-DA, sigla usada em inglês) e de calibração (regressão pelo método dos quadrados mínimos clássico – CLS, sigla usada em inglês; regressão pelo método dos quadrados mínimos inverso – ILS, sigla usada em inglês; regressão pelo método das componentes principais – PCR, sigla usada em inglês, e regressão pelo método dos quadrados mínimos parciais – PLS, sigla usada em inglês) (FERREIRA, 2015 & GRANATO *et al.*, 2018).

A análise exploratória de dados é usada para identificar as semelhanças e diferenças de um conjunto de amostras. Para tanto, são usados métodos de reconhecimento de padrões, por meio dos quais é possível identificar tendências. A partir dos padrões obtidos, pode-se interpretar os resultados e tomar decisões. Os métodos podem ser supervisionados, quando as amostras são de classes pré-estabelecidas e essa informação é utilizada, ou não

supervisionados, quando não há informações prévias sobre a classificação das amostras. De qualquer forma, ambos se baseiam nas seguintes condições: são semelhantes as amostras de mesmo tipo; diferentes tipos de amostras apresentam diferenças significativas; e é possível identificar essas diferenças e semelhanças por meio do conjunto de medidas disponíveis (FERREIRA, 2015).

A PCA é um método que projeta dados multivariados em um espaço de menor dimensão, sem que as relações entre as amostras sejam alteradas. Desse modo, as informações mais importantes são separadas e ampliadas, tornando-se evidentes a uma inspeção visual, o que não seria possível sem esse arranjo de dados. Assim, é possível identificar, visualizar e interpretar diferenças existentes entre variáveis e analisar as relações que podem ocorrer entre os objetos de análise. O método permite, ainda, identificar amostras anômalas (*outliers*), que demonstram um comportamento atípico, uma vez que se tornam evidentes com a projeção dos dados (FERREIRA, 2015).

A PCA é uma técnica de projeção. Tomando-se uma matriz de dados  $X$  ( $I \times J$ ), considera-se que todos os dados estejam contidos em um espaço  $J$ -dimensional, cada linha da matriz será um ponto desse espaço. Os dados são, então, projetados ortogonalmente em um subespaço de menor dimensionalidade, respeitando as correlações significativas entre as variáveis do conjunto de dados. Assim, um número menor de novas variáveis, capazes de descrever quase toda a informação contida nos dados originais, é identificado. A redução do número de variáveis é chamada de “compressão de dados” e é obtida por meio de combinações lineares das variáveis originais, agrupando as de informações semelhantes. As variáveis com propriedades desejáveis e específicas do novo conjunto são chamadas de “componentes principais” (PC, sigla em inglês). As PCs não são correlacionadas e são ortogonais entre si, de modo que a informação contida em uma não está na outra. As informações estão contidas de forma decrescente entre as PCs, assim, a PC1 é definida pela direção que descreve a máxima variância dos dados; a PC2 tem a direção da máxima variância dos dados no subespaço ortogonal à PC1 e assim sucessivamente. A informação que não é descrita é chamada de resíduo (FERREIRA, 2015).

Os dados para uma PCA são colocados em uma matriz ( $X$ ), que é decomposta em duas matrizes menores ( $T$  e  $P$ ) e uma matriz de resíduos ( $E$ ):  $X = TP^T + E$ . A equação básica de uma PCA também pode ser escrita da seguinte forma:  $X = t_1 p_1^T + t_2 p_2^T + \dots + t_R p_R^T + E$ ; em que:  $X$  é uma matriz de dados;  $T$  são os escores;  $P$  são os pesos (*loadings*);  $E$  são os resíduos e

R, o número de componentes principais usadas. Uma PC é definida por um par de vetores pesos e vetores escores ( $t_r, p_r$ ). Os escores descrevem as relações entre os objetos e os pesos, entre as variáveis. Na projeção dos dados no espaço  $J$ -dimensional, os escores são as projeções das amostras na direção de PC e os pesos são os cossenos dos ângulos entre cada variável e cada PC.

Para a quantificação de propriedades de interesse por meio de análise multivariada de dados, pode-se adotar o modelo PLS, que é o mais utilizado para tal finalidade. Trata-se de um modelo de caráter empírico, uma vez que resulta de observações e medidas quantitativas, obtidas em alta quantidade e qualidade para a montagem de modelos funcionais e algorítmicos. Assim, um conjunto de amostras tem determinada propriedade avaliada por um método de referência e essas mesmas amostras também são submetidas a análises de outra natureza, como por exemplo, espectroscópicas. Porém, o que um espectrofotômetro fornece é apenas a intensidade de luz medida pelo seu detector, que não é a medida quantitativa de interesse, que por sua vez é a concentração medida pelo método de referência. O que se faz é relacionar a intensidade da luz e a concentração de interesse conhecida para que seja feita uma calibração, de modo que, as amostras possam ter a concentração predita apenas por meio da análise espectrofotométrica e os cálculos da calibração (FERREIRA, 2015).

Assim, para a construção do conjunto de calibração são usados dois conjuntos de dados, um é formado pelas respostas obtidas pelos métodos de referência, é o bloco Y, chamado de variáveis dependentes; o outro é formado pelas medidas instrumentais que não contém a informação de interesse, é o bloco X, chamado de variáveis independentes ou preditoras. Para a construção de um conjunto de calibração é importante a escolha de amostras que representem bem o conjunto a ser avaliado e que as análises pelos métodos de referência sejam muito bem executadas. Para a obtenção de um modelo de calibração, além do conjunto de calibração, um conjunto de validação também é necessário, para testar o modelo construído.

Um modelo PLS é construído aplicando-se a PCA nas duas matrizes de dados (X e Y) simultaneamente. O objetivo é reduzir o espaço das medidas originais, direcionando a matriz X para uma solução cujo alvo é a propriedade de interesse. Há um compromisso entre a explicação da variância em X e a busca pela correlação com Y. Ocorre, então, uma leve rotação no eixo da PC a fim de aumentar a correlação com Y e, por isso, PC passa a se chamar variável latente (VL). Uma ou mais variáveis dependentes podem ser preditas em um

modelo PLS, mas apenas é recomendado usar mais de uma quando essas variáveis dependentes são correlacionadas entre si. O número de VL é escolhido por meio da validação cruzada, em que parte das amostras é retirada do modelo e calculam-se os erros de previsão utilizando diferentes números de VL; o processo é repetido para outras amostras até que todas tenham sido retiradas alguma vez. Modelos com número reduzido de VL deixam informação importante fora do modelo e modelos com excesso de VL estão sobreajustados e incluem informação irrelevante. O desempenho do modelo é avaliado pelos erros de predição (*Root Mean Square Error of Prediction* – RMSEP) e calibração (*Root Mean Square Error of Calibration* – RMSEC). O RMSEP é usado para o conjunto de validação e o RMSEC para o conjunto de calibração. Os erros são calculados pelas seguintes equações:

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum (\hat{y}_p - y_r)^2}{n}} \quad (1)$$

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum (\hat{y}_p - y_r)^2}{n - \nu}} \quad (2)$$

Em que:  $\hat{y}_p$  é o valor predito;  $y_r$  é o valor real;  $n$  é o número de variáveis do conjunto de validação e  $\nu$  é o número de graus de liberdade perdidos =  $n^\circ$  de VL+ 1, para dados centrados na média.

Contudo, anteriormente à construção de modelos PCA ou PLS, muitas vezes, é necessário fazer um pré-tratamento dos dados. O objetivo é reduzir as variações indesejáveis que poderiam influenciar os resultados finais. Mas devem ser feitos de tal modo a não distorcer nem comprometer os resultados. Os pré-tratamentos podem ser aplicados às amostras (linhas da matriz de dados) e nesse caso são chamados de transformação ou nas variáveis (colunas da matriz de dados) e nesse caso são chamados de pré-processamento de dados. Nas transformações de dados, cada amostra é pré-tratada individualmente, mas usando a mesma regra para todas. São exemplos de transformação as derivadas (usadas para correção de linha de base de dados espectrais) e a padronização normal de sinal (SNV, sigla em inglês). A primeira derivada corrige o deslocamento constante da linha de base, no eixo das ordenadas; e a segunda derivada corrige variação sistemática quando o espectro apresenta uma inclinação da linha de base à medida que decresce o número de onda. O SNV corrige efeitos aditivos e multiplicativos, indicada para remover interferências de espalhamento e de tamanho da partícula sólida. O pré-processamento é um processamento de rotina em quimiometria. A centragem dos dados na média e o autoescalamamento são exemplos de pré-

processamentos. Para centragem dos dados na média, a média de cada coluna é subtraída dos dados, trasladando os dados da origem natural para a origem na média, preservando a estrutura deles. Para o autoescalamento, os dados passam pela média e são divididos pelo desvio padrão de cada coluna; é usado quando as variáveis possuem diferentes naturezas e/ou distribuições e o objetivo é dar a mesma importância a todas as variáveis.

A quimiometria tem sido bastante usada para a análise de alimentos, seja na análise exploratória de dados, na predição de concentrações de compostos, na identificação de adulterações ou para outras finalidades. Modelos PLS têm sido adotados como alternativas econômicas e mais sustentáveis para análises de rotina e há diferentes exemplos na literatura. Como para a análise de antocianinas em vinhos (SORIANO et al., 2007); de carotenoides em tomates (RUBIO-DIAZ; FRANCIS; RODRIGUEZ-SAONA, 2011); da atividade antioxidante e do conteúdo total de fenólicos e flavonoides em vinho do tipo Moscatel (SILVA *et al.*, 2014), da atividade antioxidante e conteúdo de catequina em chocolates (HU *et al.*, 2016), de fibras (celulose, hemicelulose e pectina) em frutas (CHYLIŇSKA et al., 2016) e de ácidos graxos em azeites (PORTARENA et al., 2019).

## **CAPÍTULO 1**

### **CARACTERIZAÇÃO DE FARINHAS DE CASCAS DE JABUTICABA (*Plinia* spp.) DE DIFERENTES LOTES E PREDIÇÃO DE COMPOSTOS POR ANÁLISE DE FTIR**

## INTRODUÇÃO

As cascas de jabuticaba correspondem a quase metade da massa da fruta e muitas vezes não é aproveitada (LIMA *et al.*, 2008). No entanto, diferentes pesquisas têm destacado importantes propriedades biológicas das cascas de jabuticaba, como aumento da capacidade antioxidante sérica, melhora do perfil de colesterol e da resistência à insulina, entre outras. Benefícios esses atribuídos aos elevados teores de antocianinas e outros compostos fenólicos, além das fibras alimentares (PLAZA *et al.*, 2016; BATISTA *et al.*, 2018, LAMAS *et al.*; 2018; MOURA *et al.*, 2018).

Por seu potencial nutricional, entende-se que as cascas de jabuticaba estejam sendo subutilizadas. De acordo com Ayala-Zavala *et al.* (2011), subprodutos agroindustriais de frutas exóticas são ricos em compostos bioativos com propriedades antioxidantes que podem auxiliar na melhor conservação dos alimentos e, ainda, contribuir com efeitos na promoção da saúde. Subprodutos de frutas podem ser aproveitados na forma de farinhas a serem utilizadas como ingrediente alimentício, agregando valor a diferentes produtos.

Para estimular o melhor aproveitamento desses resíduos, sua caracterização detalhada é muito importante. No entanto, a variabilidade da composição de um grande número de amostras de cascas de jabuticaba disponíveis para consumo e de diferentes origens ainda é desconhecida. Outra lacuna é a de estudos que correlacionem os diferentes parâmetros químicos entre si nessas amostras. As relações entre os conteúdos de fibra alimentar e de diferentes classes compostos antioxidantes em cascas de jabuticaba ainda não foram discutidas. O conhecimento dessas relações é importante, uma vez que os compostos antioxidantes interagem com as fibras alimentares, estando diretamente ligados a elas ou, quando dispersos no meio, se ligam e são transportados para o cólon, o que implica na bioacessibilidade e biodisponibilidade desses compostos (GOÑI *et al.*, 2009; RENARD, 2017).

Desse modo, discute-se a importância da produção e caracterização de farinhas a partir de cascas de jabuticaba como uma alternativa sustentável ao descarte desses resíduos e ao uso do produto por longo tempo, dada a conhecida perecibilidade dos frutos (DE SÁ *et al.*, 2014), oferecendo à indústria de alimentos e à população, meios de enriquecer receitas e melhorar o conteúdo nutricional de produtos alimentícios.

Associado a isso, métodos de análise instrumental que também sejam mais sustentáveis e práticos são desejados para análises de rotina e podem ser construídos por meio de análises quimiométricas e espectroscopia FTIR. O que permite que por simples análise de FTIR, sem necessidade de preparo de amostra e utilização de reagentes, possa-se direcionar uma aplicação adequada para as farinhas de casca de jabuticaba (CHYLÍŃSKA et al., 2016; FRANCA; NOLLET, 2017; HU et al., 2016)

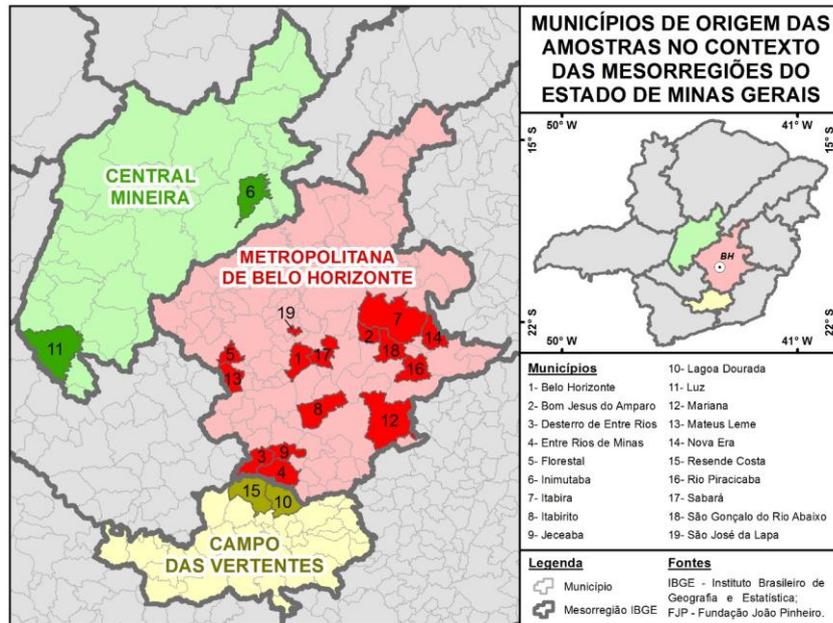
Assim sendo, os objetivos desse trabalho foram produzir farinhas de cascas de diferentes lotes de jabuticaba e investigar a composição química dessas farinhas por técnicas convencionais e FTIR, e avaliar a viabilidade do desenvolvimento de modelos de predição baseados em dados de FTIR; além de verificar possíveis correlações entre quantidades de fibras alimentares e de compostos antioxidantes.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Materiais**

Vinte e oito amostras de jabuticaba de dezenove municípios do Estado de Minas Gerais, Brasil, foram adquiridas por doação. Os 19 municípios fazem parte de 3 das 12 mesorregiões e de 9 das 66 microrregiões do estado de Minas Gerais, conforme classificação do IBGE, disponível no site do GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Um mapa dos municípios de origem das amostras de jabuticaba no contexto das mesorregiões do Estado de Minas Gerais está disposto na Figura I 1. E a relação das amostras por origem geográfica dos frutos e as quantidades utilizadas estão descritas na Tabela I 1. As amostras utilizadas no estudo estão cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SISGEN sob o número AD3B16E. Os produtos químicos alfa amilase, reagente Folin-Ciocalteu, ácido gálico, pancreatina e pepsina foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil). Os demais reagentes analíticos foram obtidos da empresa Neon (São Paulo, Brasil).

Figura I 1 – Mapa dos municípios de origem das amostras de frutos de jabuticaba



Fonte: Mapa desenvolvido pelo geógrafo Rafael Militão para este trabalho.

Tabela I 1 - Relação das amostras de jabuticabas utilizadas no estudo

Amostras	Origem geográfica dos frutos		Frutos (kg)
	Município	Microrregião	
A1	Belo Horizonte – Bairro Itapoã	Belo Horizonte	1,56
A2	Belo Horizonte – Bairro Serrano	Belo Horizonte	4,23
A3	Entre Rios de Minas – Comunidade Rural Camapuã de Cima	Conselheiro Lafaiete	3,20
A4	Mateus Leme – Bairro Santa Bárbara	Belo Horizonte	2,70
A5	Mateus Leme – Bairro Centro	Belo Horizonte	3,55
A6	Florestal	Pará de Minas	1,86
A7	São José da Lapa	Belo Horizonte	3,16
A8	Entre Rios de Minas – Comunidade Rural Água Limpa 1	Conselheiro Lafaiete	2,10
A9	Entre Rios de Minas – Bairro Centro	Conselheiro Lafaiete	2,13
A10	Mariana	Ouro Preto	2,14
A11	Luz	Bom Despacho	2,40
A12	Mateus Leme – Comunidade Rural Sítio Novo	Belo Horizonte	2,41
A13	Rio Piracicaba	Itabira	1,36
A14	São Gonçalo do Rio Abaixo	Itabira	1,25
A15	Bom Jesus do Amparo	Itabira	1,38
A16	Entre Rios de Minas – Comunidade Rural Água Limpa 2	Conselheiro Lafaiete	2,59
A17	Desterro de Entre Rios	Conselheiro Lafaiete	2,64
A18	Lagoa Dourada	São João del Rei	2,44
A19	Sabará 1 – Bairro Paciência	Belo Horizonte	1,38
A20	Entre Rios de Minas – Bairro Castro	Conselheiro Lafaiete	2,19
A21	Resende Costa	São João del Rei	1,04
A22	Jeceaba	Itaguara	1,78
A23	Sabará 2	Belo Horizonte	1,67
A24	Itabirito	Ouro Preto	1,48
A25	Itabira	Itabira	1,69
A26	Nova Era	Itabira	1,66
A27	Mateus Leme - Bairro Santa Bárbara 2	Belo Horizonte	1,22
A28	Inimutaba	Curvelo	1,14

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Produção das farinhas de cascas de jabuticaba (FCJ)

Os frutos passaram por um processo de triagem para separação daqueles em estágio maduro de maturação horticultural, caracterizado pela cor preta das cascas. Os demais foram descartados. Os frutos selecionados foram lavados em água corrente, sanitizados em solução de hipoclorito de sódio 0,2%, por 10 minutos e enxaguados em água potável. As cascas foram separadas manualmente da polpa e sementes, sendo dispostas em estufa com circulação de ar, em bandejas de aço inoxidável, a 60 °C por 20 horas. Após a secagem, as amostras foram trituradas em moedor de café (marca Cadence, modelo MDR301) e peneiradas em tamis para seleção de partículas com diâmetro menor ou igual a 425 µm. As farinhas foram estocadas em embalagem plástica de polietileno de baixa densidade, ao abrigo de luz, a -18°C. Os frutos inteiros, as cascas e as farinhas produzidas tiveram as massas aferidas para cálculos da proporção de cascas nos frutos e rendimento da produção das farinhas.

### 2.2.2 Análise de cor

Por meio de um colorímetro HunterLab Colorflex 45/0, modelo tristimulus, ângulo de observação de 10° e iluminante D65, foram analisados os parâmetros  $L^*$  (luminosidade), coordenada  $a^*$  (conteúdo de vermelho a verde) e coordenada  $b^*$  (conteúdo de amarelo a azul). Os parâmetros  $h^\circ$  (tonalidade – ângulo *Hue*) e  $C^*$  (intensidade da cor - cromaticidade) foram posteriormente calculados pelas equações 3 e 4:

$$h^* = \arctan b^*/a^* \quad (3)$$

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (4)$$

### 3.2.3 Composição química

A análise de composição centesimal seguiu os métodos propostos pela AOAC (2012). Umidade foi determinada por gravimetria, em estufa com circulação de ar a 105 °C (método 950.46). Lipídios totais foram analisados pelo método Soxhlet, pela submissão das amostras em contato com refluxo de éter de petróleo (método 925.38). Proteínas totais foram determinadas pelo método Kjeldahl (920.152), seguindo as etapas de digestão com ácido sulfúrico, destilação com hidróxido de sódio 40% (m/v) em ácido bórico 2% (m/v) e titulação com ácido clorídrico 0,1 mol/L, tendo sido adotado 6,25 como fator de conversão de nitrogênio para proteína. O teor de cinza foi determinado por meio da carbonização em mufla (método 940.26). Carboidratos totais foram calculados por diferença, subtraindo-se de 100 os teores em base seca de lipídios, proteínas e cinzas.

Os conteúdos de fibra alimentar (solúvel e insolúvel) foram determinados nas amostras secas e desengorduras, pelo método enzimático gravimétrico proposto por Asp *et al.* (1983), que consiste na digestão das amostras com as enzimas  $\alpha$ -amilase, pepsina e pancreatina, em condições ideais de temperatura e pH, com posterior filtração das amostras para separação das fibras insolúveis e precipitação das fibras solúveis com etanol (seguida de filtração), finalizando com a incineração para obtenção das cinzas e cálculo indireto das fibras alimentares. Análise complementar de proteína, pelo método Kjeldahl (AOAC, 2012) foi realizada para desconto da fração não digerível, conforme orientam Asp *et al.* (1983). Para a análise de fibras alimentares, as amostras foram secas e desengorduradas.

O conteúdo de sólidos solúveis de soluções aquosas das farinhas (1g/mL) foi medido com o auxílio de um refratômetro digital e registrado em grau Brix. Para o preparo das soluções, as farinhas foram misturadas com água destilada (1:1) e agitadas em incubadora orbital à temperatura ambiente, por 30 minutos e, posteriormente, foram centrifugadas por 3 minutos, a 3500 rpm. O pH dessas soluções foi analisado com o auxílio de um potenciômetro digital. Foram feitas três leituras de sólidos solúveis e de pH.

#### **2.2.4 Análises de fenólicos totais extraíveis, fenólicos não extraíveis (proantocianidinas), antocianinas, carotenoides e clorofilas**

Os compostos fenólicos foram extraídos de acordo com o método descrito em Resende, Franca e Oliveira (2019). As amostras (0,1 g) foram homogeneizadas com solução de metanol 50% (m/v) (4 mL) e deixadas em repouso por 1 hora a cerca de 6°C; após centrifugação (3.500 rpm por 15 minutos), o sobrenadante foi recolhido e o procedimento repetido com acetona 70% (m/v). Os sobrenadantes foram combinados e o volume final foi completado para 10 mL com água destilada. Os extratos foram feitos em triplicata.

Os extratos preparados foram então utilizados no mesmo dia para a análise dos compostos fenólicos totais (fração extraível) pelo método Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999), com algumas adaptações. Um mililitro de uma diluição de cada extrato (1:10) foi misturado a 5 mL de solução do reagente Folin-Ciocalteu 10% (m/v), seguida por mistura a 4 mL de solução de carbonato de sódio 7,5% (m/v). A solução final foi deixada em repouso por 2 horas, em temperatura ambiente, na ausência de luz. A absorbância das soluções a 765 nm foram lidas em espectrofotômetro UV-Vis (marca Micronal, modelo AJX 1900). Uma curva de calibração foi construída usando ácido gálico. A quantidade de compostos fenólicos totais (fração extraível) foi expressa em equivalentes de ácido gálico (EAG).

O método descrito avalia a capacidade de compostos antioxidantes presentes nas amostras teste (principalmente, mas não exclusivamente, de natureza fenólica) reduzirem uma mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstístico (reagente Folin-Ciocalteu) a óxido de tungstênio e óxido de molibdênio, compostos azuis, cujo máximo de absorção da luz ocorre a 765 nm, permitindo a quantificação da concentração das substâncias redutoras (NACZK; SHAHIDI, 2004).

As proantocianidinas (*non-extractable proanthocyanidins* - NEPA) (ou polifenóis não extraíveis) foram quantificadas a partir dos resíduos da extração dos compostos fenólicos extraíveis, de acordo com o método proposto por Zurita, Díaz-Rubio e Saura-Calixto (2012), com poucas adaptações. O método consiste em submeter as amostras a uma butanólise em meio ácido para liberar as proantocianidinas de baixo peso molecular de proantocianidinas poliméricas e dos complexos carboidrato-proteína-proantocianidina.

Para tanto, os resíduos da extração dos compostos fenólicos extraíveis foram secos a 40°C por 16 horas e tratados com solução de ácido clorídrico (HCl)/butanol (5:95 v/v), contendo 0,7 g/L de cloreto de ferro III (FeCl<sub>3</sub>), a 100°C por 1 hora. As amostras foram centrifugadas (3.500 rpm por 10 minutos) e os sobrenadantes recolhidos. Foram feitas duas

lavagens com a solução de HCl/butanol/ FeCl<sub>3</sub>, os sobrenadantes foram combinados e o volume final acertado para 10 mL com a solução de butanol. As absorvâncias das soluções a 450 nm e 555 nm foram lidas no espectrofotômetro UV-Vis. Foi utilizada a curva de calibração feita com concentrado polimérico de proantocianidinas isolado de vagem de alfarroba (*Ceratonia siliqua* L.), conforme recomendam Zurita *et al.*(2012).

O conteúdo de antocianinas monoméricas totais (AMT) foi analisado pelo método pH diferencial, conforme descrito por Giusti e Wrolstad (2001) para amostras de pequena massa, com poucas adaptações. Inicialmente, para a extração das antocianinas, as amostras foram diluídas em água, 10% (m/v), e misturadas com solução de acetona 70% (v/v) acidificada com 0,01% de HCl. As amostras foram centrifugadas (3.500 rpm por 3 minutos) e os sobrenadantes recolhidos. Foram feitas mais três lavagens com a solução de acetona acidificada e os sobrenadantes foram combinados. A eles adicionou-se clorofórmio (1:1) e misturou-se suavemente. A mistura foi centrifugada (3.500 rpm por 5 minutos) e a parte aquosa foi recolhida e composta com água destilada a volume conhecido.

Para a quantificação das antocianinas, a solução aquosa (extrato) foi misturada, em tubos distintos, a soluções tampões de cloreto de potássio (pH=1) e acetato de sódio (pH=4,5). Após estabilização das soluções (cerca de 15 minutos), foram feitas as leituras de absorvância a 510 nm (absorvância máxima observada por varredura e correspondente à cianidina-3-glicosídeo) e a 700 nm para correção de dispersão da luz. Antocianinas monoméricas totais foram calculadas pela equação 5:

$$\text{Antocianinas monoméricas totais (mg/L)} = (A \times MM \times FD \times 1000) / (\epsilon \times 1) \quad (5)$$

Em que: A é a absorvância das amostras diluídas (equação 6); MM é a massa molecular da cianidina-3-glicosídeo; FD é o fator de diluição dos extratos nos tampões (volume final/volume inicial) e  $\epsilon$  é a absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (6)$$

Carotenoides (C), clorofila a (C<sub>a</sub>) e clorofila b (C<sub>b</sub>) foram analisados pelo método descrito por Lichtenthaler e Buschmann (2001), com pequenas adaptações. Carotenoides e clorofilas foram extraídos com acetona pura, em uma proporção de 0,3 g de amostra para 5 mL de acetona. Cem miligramas de óxido de magnésio (MgO) foram inicialmente acrescentados às amostras para neutralizar os ácidos vegetais e evitar a formação de feofitina. A mistura em acetona foi centrifugada (3.500 rpm por 5 minutos) e o sobrenadante foi

recolhido para leitura das absorvâncias em equipamento de UV-Vis a 661, 664 e 470 nm. Os compostos foram quantificados por meio das equações 7 a 9, sendo  $A$  = absorvância.

$$C_a (\mu\text{g/ml}) = 11,24 A_{661} - 2,04 A_{644} \quad (7)$$

$$C_b (\mu\text{g/ml}) = 20,13 A_{644} - 4,19 A_{661} \quad (8)$$

$$C (\mu\text{g/mL}) = (1000 A_{470} - 1,90c_a - 63,14c_b)/214 \quad (9)$$

### 2.2.5 Análise de espectroscopia em infravermelho (FTIR)

As amostras foram analisadas em espectrofotômetro no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), modelo IRAffinity-1 (Shimadzu, Japão), com detector *Deuterated Triglycine Sulfate Doped with L-Alanine* (DLATGS). Foi utilizado um acessório de amostragem (MIRacle), com cristal de seleneto de zinco para as medidas de reflectância total atenuada (ATR). Foram gerados espectros entre 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , com 20 *scans* e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . As análises foram feitas em atmosfera seca, a 20 °C. Foi realizado um *background* com ar ambiente antes de cada leitura e foi feita correção atmosférica (gás carbônico e água) dos espectros pelo *software* IRSolution. Amostras com tamanho de partícula < 0,15 mm foram utilizadas para as análises por apresentarem melhor qualidade espectral (maior intensidade e menor interferência de ruído).

### 2.2.6 Análise estatística

À exceção da análise de lipídios, todas as demais foram feitas em triplicatas e calculou-se média e desvio padrão. Foi feita análise de variância (ANOVA) e o teste de comparação de médias Tukey, a 5% de significância. Essa parte das análises estatísticas foi feita no *software* IBM SPSS Statistics, versão 19.

O *software* MATLAB, versão R2009b (MathWorks, Natick, MA, EUA) e o PLS Toolbox versão 4.0 (Eigenvector Technologies, Wenatchee, WA, EUA) foram empregados

para análise de Componentes Principais (PCA) e de Mínimos Quadrados Parciais (PLS). Os dados espectrais foram centrados na média e os dados não espectrais foram autoescalados para a análise de PCA, enquanto que para PLS todos os dados foram centrados na média. Os dados espectrais foram submetidos a técnicas de pré-processamento para compensar variações nas condições experimentais e melhorar os resultados. As técnicas empregadas foram: correção de linha de base (por mínimos quadrados ponderados ou segunda derivada com suavização de Savitzky-Golay) e padronização normal de sinal (SNV) para correção de interferência de tamanho de partícula sólida. Para os modelos PLS, o algoritmo Kennard-Stone foi usado para a seleção de amostras para conjuntos de calibração e validação. O número de variáveis latentes (VL) foi selecionado por meio da validação cruzada *leave one out*, de acordo com baixo valor do *Root Mean Square Error of Cross-Validation* (RMSECV). O desempenho do modelo foi avaliado pelos erros quadráticos médios da raiz para calibração (RMSEC) e validação (RMSEP).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Preparação da farinha e composição química**

Foi observada alta variabilidade na composição das cascas de jabuticaba. As quantidades de cascas nos frutos de jabuticaba variaram de 28,2% (m/m) (A23) a 48,8% (A8) (Tabela I 2). Os valores estão de acordo com o relatado por (LIMA *et al.*, 2008) em amostras de jabuticaba das variedades Paulista (33%) e Sabará (43%). As amostras utilizadas neste estudo foram adquiridas diretamente do mercado e de produtores locais, sem identificação de variedades ou procedências específicas, refletindo uma amostragem a que os consumidores teriam acesso, considerando assim a variabilidade natural dos frutos. Os rendimentos das farinhas produzidas variaram de 8,2 a 18,2% (Tabela I 2). Todas as farinhas preparadas apresentaram teores de umidade abaixo do limite recomendado de 15g/100 g para farinhas, de acordo com a legislação brasileira para controle de qualidade do produto (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005) (Tabela I 2).

Imagens das farinhas de jabuticaba produzidas podem ser vistas na Figura I 2. Os valores de luminosidade ( $L^*$ ) variaram de 19,78 (A5) a 40,23 (A28) (Tabela I 2). Os valores

de luminosidade são baixos em comparação com outras farinhas produzidas a partir de resíduos de frutas, como a farinha de resíduo de pequi (epicarpo e mesocarpo) (45,2 a 55,2) e farinha de casca de buriti (55,1 a 62,4) (LEÃO *et al.*, 2017; RESENDE; FRANCA; OLIVEIRA, 2019). No entanto, farinhas escuras (baixa luminosidade) podem ser adicionadas a produtos de panificação integrais que também são escuros e têm reivindicações de funcionalidade. Farinhas de casca de jabuticaba também podem ser adicionadas a produtos que apresentam cor semelhante. Para tanto, devem ser observados os valores de ângulo Hue ( $h^\circ$ ). Todas as amostras apresentaram tonalidade avermelhada (ângulo Hue de 8,58 a 21,47 - Tabela I 2). A intensidade da cor ( $C^*$ ) variou de 16,19, correspondendo à amostra menos vívida (A5), até 26,40, correspondendo à mais vívida (A1).

**Figura I 2- Imagens das FCJ produzidas**



**Fonte: A autora.**

Tabela I 2- Proporção de cascas, rendimento, umidade e parâmetros de cor das FCJ

Amostras	Proporção de cascas (%)	Rendimento (%)	Umidade (g/100g)	$L^*$	$C^*$	$h^\circ$
A1	42,6	13,6	9,94 ± 0,19 <sup>ijkl</sup>	29,71 ± 0,18 <sup>cde</sup>	26,40 ± 0,12 <sup>a</sup>	14,35 ± 0,18 <sup>de</sup>
A2	34,7	17,5	11,15 ± 0,05 <sup>fghi</sup>	23,92 ± 0,29 <sup>klmno</sup>	20,37 ± 0,27 <sup>fghij</sup>	10,20 ± 0,04 <sup>ijkl</sup>
A3	45,7	12,3	11,25 ± 0,04 <sup>efgh</sup>	27,93 ± 1,17 <sup>defg</sup>	23,84 ± 0,85 <sup>bc</sup>	11,56 ± 0,30 <sup>gh</sup>
A4	34,6	11,8	9,93 ± 0,05 <sup>ijkl</sup>	25,15 ± 0,31 <sup>ghijkl</sup>	19,99 ± 0,14 <sup>hij</sup>	10,15 ± 0,46 <sup>kl</sup>
A5	36,2	8,3	14,99 ± 0,04 <sup>a</sup>	19,78 ± 0,69 <sup>no</sup>	16,19 ± 0,52 <sup>l</sup>	11,46 ± 0,32 <sup>gh</sup>
A6	32,7	12,5	9,02 ± 0,13 <sup>l</sup>	21,84 ± 0,32 <sup>no</sup>	18,98 ± 0,29 <sup>jk</sup>	9,51 ± 0,23 <sup>l</sup>
A7	39,7	8,4	14,42 ± 0,08 <sup>ab</sup>	23,68 ± 0,24 <sup>klmno</sup>	18,75 ± 0,29 <sup>jk</sup>	13,93 ± 0,28 <sup>eg</sup>
A8	48,8	9,2	12,35 ± 0,03 <sup>cd</sup>	28,98 ± 0,65 <sup>cdef</sup>	24,74 ± 0,37 <sup>b</sup>	16,45 ± 0,05 <sup>b</sup>
A9	47,4	8,2	14,83 ± 0,15 <sup>a</sup>	21,53 ± 0,08 <sup>no</sup>	17,77 ± 0,04 <sup>kl</sup>	13,39 ± 0,51 <sup>f</sup>
A10	48,1	10,8	11,24 ± 0,04 <sup>efghi</sup>	35,59 ± 1,28 <sup>b</sup>	20,04 ± 0,45 <sup>hij</sup>	21,18 ± 0,16 <sup>a</sup>
A11	36,2	15,7	13,39 ± 0,6 <sup>bc</sup>	25,98 ± 0,45 <sup>ghijk</sup>	20,76 ± 0,23 <sup>efghi</sup>	8,58 ± 0,27 <sup>m</sup>
A12	31,4	16,9	11,91 ± 0,01 <sup>def</sup>	22,84 ± 0,73 <sup>lmno</sup>	20,16 ± 0,59 <sup>ghij</sup>	10,97 ± 0,16 <sup>hij</sup>
A13	37,8	13,4	10,76 ± 0,03 <sup>ghij</sup>	23,40 ± 0,08 <sup>klmno</sup>	20,06 ± 0,54 <sup>hij</sup>	11,11 ± 0,07 <sup>hi</sup>
A14	35,4	10,6	12,27 ± 0,07 <sup>d</sup>	26,20 ± 0,39 <sup>fghijk</sup>	19,81 ± 0,30 <sup>hij</sup>	10,68 ±
A15	47,7	8,2	14,57 ± 0,38 <sup>a</sup>	26,10 ± 0,87 <sup>ghijk</sup>	20,18 ± 0,46 <sup>ghij</sup>	14,57 ± 0,35 <sup>de</sup>
A16	31,5	17,0	11,68 ± 0,03 <sup>d<sup>efg</sup></sup>	24,98 ± 1,33 <sup>hijkl</sup>	19,76 ± 0,74 <sup>hij</sup>	9,98 ± 0,20 <sup>kl</sup>
A17	44,9	11,4	10,29 ± 0,05 <sup>hij</sup>	29,20 ± 1,22 <sup>cde</sup>	23,85 ± 0,28 <sup>b</sup>	11,15 ± 0,31 <sup>h</sup>
A18	41,2	16,1	12,10 ± 0,09 <sup>def</sup>	31,40 ± 1,62 <sup>c</sup>	21,90 ± 0,50 <sup>def</sup>	9,54 ± 0,28 <sup>l</sup>
A19	38,8	18,2	10,68 ± 0,69 <sup>ghij</sup>	24,05 ± 0,55 <sup>klmno</sup>	19,05 ± 0,21 <sup>jk</sup>	12,24 ± 0,33 <sup>g</sup>
A20	43,4	16,0	10,20 ± 0,63 <sup>ijk</sup>	30,29 ± 0,44 <sup>cd</sup>	21,77 ± 0,13 <sup>defg</sup>	15,22 ± 0,21 <sup>cd</sup>
A21	40,7	14,4	12,03 ± 0,04 <sup>def</sup>	24,59 ± 0,21 <sup>ijklm</sup>	22,19 ± 0,17 <sup>cde</sup>	9,67 ± 0,14 <sup>l</sup>
A22	34,1	12,4	12,07 ± 0,10 <sup>def</sup>	26,30 ± 0,72 <sup>fghij</sup>	23,19 ± 1,58 <sup>bcd</sup>	10,70 ±
A23	28,2	18,2	10,28 ± 1,25 <sup>hij</sup>	25,75 ± 0,59 <sup>ghijk</sup>	18,76 ± 0,09 <sup>jk</sup>	16,01 ± 0,12 <sup>bc</sup>
A24	36,4	13,6	10,43 ± 0,11 <sup>hij</sup>	24,31 ± 0,32 <sup>klmno</sup>	22,09 ± 0,67 <sup>de</sup>	9,75 ± 0,23 <sup>l</sup>
A25	33,7	15,3	12,32 ± 0,15 <sup>d</sup>	27,44 ± 0,58 <sup>defghi</sup>	19,31 ± 0,37 <sup>ijk</sup>	15,15 ± 0,35 <sup>cd</sup>
A26	34,9	12,8	11,54 ± 0,36 <sup>defg</sup>	27,82 ± 1,19 <sup>defgh</sup>	21,38 ± 0,74 <sup>efgh</sup>	15,51 ± 0,47 <sup>c</sup>
A27	29,1	16,1	11,65 ± 0,35 <sup>defg</sup>	27,30 ± 0,50 <sup>efghi</sup>	19,55 ± 0,52 <sup>ij</sup>	14,18 ± 0,19 <sup>ef</sup>
A28	40,0	10,8	9,17 ± 0,20 <sup>kl</sup>	40,23 ± 2,67 <sup>a</sup>	19,50 ± 0,12 <sup>ij</sup>	21,47 ± 0,58 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Em que:  $L^*$  = Luminosidade;  $h^\circ$  = tonalidade;  $c^*$  = intensidade. <sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si a 5% de significância; (n=3).

Os valores determinados para a composição centesimal das farinhas da casca de jabuticaba estão apresentados na Tabela I 3 (base seca). Os teores de lipídios foram baixos para todas as farinhas preparadas, como esperado para a farinha de frutas. Apenas três amostras (A6, A20 e A23) apresentaram teores lipídicos acima de 4 g/100 g. Os níveis de proteína variaram de 3,81 g/100 g (A3) a 7,27 g/100 g (A15) e os conteúdos de cinzas variaram de 3,34 g/100 g (A16) a 7,87 g/100 g (A28). É importante observar a alta variabilidade nos teores de cinzas e que a maioria das amostras apresentou teores de cinzas acima da faixa relatada na literatura para cascas de jabuticaba: 3,2 - 4,0 g/100 g (GURAK *et al.*, 2014; INADA *et al.*, 2015). Isso é atribuído ao fato de que neste estudo empregou-se uma

grande variedade de amostras de jabuticaba, enquanto a maioria dos estudos publicados focou em amostras de uma origem específica.

**Tabela I 3- Composição centesimal das FCJ (base seca)**

<b>Amostras</b>	<b>Lipídios totais (g/100g)</b>	<b>Proteínas totais (g/100g)</b>	<b>Cinzas (g/100g)</b>	<b>Carboidratos totais (g/100g)</b>
<b>A1</b>	3,03	5,30 ± 0,41 <sup>bcde</sup>	5,50 ± 0,62 <sup>bcde</sup>	86,17
<b>A2</b>	3,08	4,71 ± 1,05 <sup>bcde</sup>	5,23 ± 0,89 <sup>cdef</sup>	86,98
<b>A3</b>	2,57	3,81 ± 0,19 <sup>e</sup>	5,41 ± 0,37 <sup>cde</sup>	88,21
<b>A4</b>	2,40	4,87 ± 0,77 <sup>bcde</sup>	6,43 ± 0,65 <sup>abcd</sup>	86,30
<b>A5</b>	1,04	5,12 ± 0,63 <sup>bcde</sup>	5,25 ± 0,61 <sup>cdef</sup>	88,59
<b>A6</b>	5,12	4,44 ± 0,50 <sup>cde</sup>	6,57 ± 0,63 <sup>abcd</sup>	83,87
<b>A7</b>	2,09	4,68 ± 0,13 <sup>bcde</sup>	5,35 ± 0,57 <sup>cdef</sup>	87,88
<b>A8</b>	1,81	5,20 ± 0,20 <sup>bcde</sup>	6,11 ± 0,53 <sup>abcd</sup>	86,88
<b>A9</b>	1,76	5,07 ± 0,41 <sup>bcde</sup>	6,61 ± 0,21 <sup>abcd</sup>	86,56
<b>A10</b>	1,75	4,87 ± 0,55 <sup>bcde</sup>	5,27 ± 0,56 <sup>cdef</sup>	88,11
<b>A11</b>	2,08	4,64 ± 0,91 <sup>bcde</sup>	7,48 ± 1,08 <sup>ab</sup>	85,80
<b>A12</b>	2,53	4,15 ± 0,78 <sup>cde</sup>	5,14 ± 0,69 <sup>cdef</sup>	88,18
<b>A13</b>	1,86	4,67 ± 0,88 <sup>bcde</sup>	5,75 ± 0,26 <sup>bcd</sup>	87,72
<b>A14</b>	2,16	5,74 ± 0,38 <sup>abcd</sup>	6,24 ± 0,69 <sup>abcd</sup>	85,86
<b>A15</b>	0,84	7,27 ± 0,22 <sup>a</sup>	6,00 ± 0,21 <sup>abcd</sup>	85,89
<b>A16</b>	0,99	4,61 ± 1,03 <sup>bcde</sup>	3,34 ± 0,09 <sup>f</sup>	91,06
<b>A17</b>	0,77	6,38 ± 0,28 <sup>ab</sup>	6,23 ± 0,34 <sup>abcd</sup>	86,62
<b>A18</b>	0,99	5,24 ± 0,36 <sup>bcde</sup>	5,42 ± 0,36 <sup>cde</sup>	88,35
<b>A19</b>	1,76	4,85 ± 0,40 <sup>bcde</sup>	3,49 ± 0,11 <sup>ef</sup>	89,90
<b>A20</b>	5,19	5,60 ± 0,64 <sup>abcde</sup>	5,02 ± 0,41 <sup>def</sup>	84,19
<b>A21</b>	1,99	3,96 ± 0,40 <sup>de</sup>	6,39 ± 1,47 <sup>abcd</sup>	87,66
<b>A22</b>	2,68	5,15 ± 0,47 <sup>bcde</sup>	6,76 ± 0,55 <sup>abcd</sup>	85,41
<b>A23</b>	4,06	4,30 ± 1,06 <sup>cde</sup>	5,60 ± 0,73 <sup>bcd</sup>	86,04
<b>A24</b>	1,77	3,98 ± 0,56 <sup>de</sup>	5,62 ± 0,91 <sup>bcd</sup>	88,63
<b>A25</b>	0,96	5,56 ± 0,22 <sup>abcde</sup>	4,99 ± 0,12 <sup>def</sup>	88,49
<b>A26</b>	1,35	4,45 ± 0,17 <sup>cde</sup>	5,18 ± 0,12 <sup>cdef</sup>	89,02
<b>A27</b>	0,72	5,39 ± 0,48 <sup>bcde</sup>	7,13 ± 0,65 <sup>abc</sup>	86,76
<b>A28</b>	2,14	5,95 ± 0,26 <sup>abc</sup>	7,87 ± 1,02 <sup>a</sup>	84,04

Médias seguidas de mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si a 5% de significância.

Os teores de fibras alimentares insolúveis, solúveis e total, em matéria seca e desengordurada, estão dispostos na Tabela I 4. Fibras alimentares insolúveis variaram de 26,99 g/100g (A11) a 46,33 g/100g (A28). E fibras alimentares solúveis variaram de 4,41 g/100g (A6) a 9,27 g/100g (A21).

Tabela I 4-Teores de fibra alimentar das FCJ (base seca)

Amostras	FAI (g/100g)	FAS (g/100g)	FAT (g/100g)	FAI/FAS
A1	41,43 ± 1,82 <sup>abc</sup>	5,45 ± 0,75 <sup>efgh</sup>	46,87	7,61
A2	29,40 ± 0,73 <sup>ghij</sup>	5,90 ± 0,48 <sup>bcdefgh</sup>	35,30	4,98
A3	33,97 ± 1,43 <sup>defgh</sup>	6,50 ± 1,46 <sup>abcdefgh</sup>	40,47	5,23
A4	29,94 ± 1,51 <sup>efghij</sup>	7,00 ± 0,25 <sup>abcdefgh</sup>	36,93	4,28
A5	32,66 ± 0,36 <sup>efghij</sup>	4,80 ± 0,83 <sup>gh</sup>	37,46	6,80
A6	34,79 ± 6,10 <sup>defg</sup>	4,41 ± 1,01 <sup>h</sup>	39,20	7,89
A7	35,12 ± 2,27 <sup>cdefg</sup>	6,72 ± 0,91 <sup>abcdefgh</sup>	41,84	5,23
A8	33,62 ± 3,32 <sup>efgh</sup>	6,01 ± 0,79 <sup>bcdefgh</sup>	39,62	5,59
A9	33,53 ± 3,16 <sup>efghi</sup>	6,69 ± 0,49 <sup>abcdefgh</sup>	40,22	5,01
A10	41,97 ± 0,65 <sup>ab</sup>	7,81 ± 0,91 <sup>abcde</sup>	49,78	5,37
A11	26,99 ± 0,71 <sup>j</sup>	8,68 ± 0,69 <sup>ab</sup>	35,67	3,11
A12	31,77 ± 0,36 <sup>efghij</sup>	5,56 ± 0,63 <sup>cdefgh</sup>	37,33	5,72
A13	31,78 ± 1,92 <sup>efghij</sup>	8,21 ± 0,81 <sup>abcde</sup>	39,98	3,87
A14	36,31 ± 1,98 <sup>bcdef</sup>	8,35 ± 1,80 <sup>abc</sup>	44,66	4,35
A15	34,14 ± 1,49 <sup>defgh</sup>	6,22 ± 0,65 <sup>bcdefgh</sup>	40,37	5,49
A16	30,69 ± 0,80 <sup>efghij</sup>	6,77 ± 0,53 <sup>abcdefgh</sup>	37,45	4,53
A17	33,38 ± 0,85 <sup>efghij</sup>	8,35 ± 0,56 <sup>abcd</sup>	41,73	4,00
A18	36,71 ± 0,59 <sup>bcde</sup>	7,08 ± 0,42 <sup>abcdefgh</sup>	43,79	5,19
A19	27,17 ± 3,08 <sup>ij</sup>	6,16 ± 0,37 <sup>bcdefgh</sup>	33,33	4,41
A20	40,03 ± 0,91 <sup>abcd</sup>	4,91 ± 0,80 <sup>efgh</sup>	44,94	8,16
A21	27,93 ± 0,33 <sup>hij</sup>	9,27 ± 1,78 <sup>a</sup>	37,20	3,01
A22	32,69 ± 0,46 <sup>efghij</sup>	7,49 ± 0,39 <sup>abcdefg</sup>	40,18	4,37
A23	29,36 ± 1,13 <sup>ghij</sup>	7,25 ± 0,32 <sup>abcdefg</sup>	36,61	4,05
A24	33,02 ± 1,51 <sup>efghij</sup>	7,76 ± 0,40 <sup>abcde</sup>	40,78	4,26
A25	35,11 ± 0,42 <sup>cdefg</sup>	7,42 ± 1,06 <sup>abcdefg</sup>	42,53	4,73
A26	35,07 ± 1,11 <sup>cdefg</sup>	7,66 ± 0,86 <sup>bcdef</sup>	42,73	4,58
A27	33,38 ± 2,86 <sup>efghij</sup>	5,51 ± 0,95 <sup>defgh</sup>	38,89	6,06
A28	46,33 ± 2,15 <sup>a</sup>	6,46 ± 1,34 <sup>abcdefgh</sup>	52,79	7,17

<sup>1</sup>Em que: FAI = fibra alimentar insolúvel; FAS = fibra alimentar; FAT = fibra alimentar total. <sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si a 5% de significância; (n=3). solúvel.

Os resultados encontrados foram, em média, superiores à maioria outros descritos na literatura. Leite-Legatti *et al.* (2012) descreveram um pó produzido a partir de cascas de jabuticaba liofilizadas com cerca de 20,00 g/100g de fibras insolúveis e 5 g/100g de fibras solúveis; investigadas pelo mesmo método enzimático gravimétrico usando neste estudo (ASP *et al.*,1983). Alezandro *et al.* (2013), pelo método enzimático gravimétrico AOAC 991.43, encontram 17,0 g/100g de fibras insolúveis e 2,30 g/100g de fibras solúveis em cascas de jabuticaba Sabará e 16,1 g/100g de fibras insolúveis e 1,80 g/100g de fibras solúveis na espécie Paulista. Batista *et al.* (2017), também pelo método da AOAC, obtiveram resultados mais próximos ao presente estudo com cascas de jabuticaba secas em estufa convectiva, tendo encontrado 25,34 g/100g de fibras insolúveis e 8,49 g/100g de fibras solúveis. Usando o

método AACCI 32–07.01, Oliveira, Alencar e Steel (2018) calcularam 24,12 g/100g e 6,87 g/100g de fibras insolúveis e solúveis, respectivamente, em um pó produzido com cascas de jabuticaba Sabará. As diferenças encontradas, principalmente no presente estudo, em que o mesmo método de análise foi empregado para todas as amostras, refletem a grande variabilidade do conteúdo de fibras alimentares em cascas de jabuticaba, em uma dimensão que ainda não tinha sido relatada na literatura. Portanto, fica demonstrado que cascas de jabuticaba maduras apresentam grande variabilidade no conteúdo de fibras alimentares e que esses teores podem ser bastante superiores àqueles descritos até então.

Outro aspecto importante em relação às fibras alimentares é a proporção entre as fibras insolúveis e solúveis, que interfere nas propriedades tecnológicas dos produtos alimentícios e também em parâmetros de saúde. Oh, Bae e Lee (2014) observaram comportamentos distintos de bolos com diferentes proporções de fibras solúveis e insolúveis para propriedades de hidratação, volume, dureza e índice glicêmico. Burton-Freeman *et al.* (2017), em um estudo clínico com mulheres com excesso de peso, destacaram a importância da incorporação de maior proporção de fibras solúveis para mais benefícios metabólicos e controle de apetite e ingestão calórica. No entanto, é sabido que, em geral, os alimentos possuem maiores quantidade de fibras insolúveis que solúveis e que, alimentos com menor razão entre fibras insolúveis/solúveis são importantes para o acréscimo das fibras solúveis na dieta. As farinhas de cascas de jabuticaba produzidas neste estudo têm proporção de fibras insolúveis/solúveis que variam de 3,01 (A21) a 8,16 (A20); valores que se destacam entre outros encontrados na literatura para amostras semelhantes. Marques *et al.* (2013) apresentam dados de fibras alimentares de farinhas de bagaço e sementes de acerola, com razões entre fibras insolúveis/solúveis de 3,27 e 15,89, respectivamente. Trabalhando com maracujá, as razões entre fibras insolúveis/solúveis dos dados encontrados por López-Vargas *et al.* (2013) são de 2,69 para um pó produzido a partir do albedo e 9,17 para uma amostra produzida com a polpa e as sementes. Em um estudo clínico de intervenção sobre componentes da síndrome metabólica, Urquiaga *et al.* (2015) utilizaram uma farinha de bagaço de uva de vinho tinto, cuja proporção entre as fibras insolúveis/solúveis era de 12,48. Ressalta-se, portanto, que as farinhas de cascas de jabuticaba apresentam proporções de fibras insolúveis/solúveis próximas ou melhores que as referências descritas na literatura. Portanto, de modo geral, farinhas de cascas de jabuticaba são boas fontes de fibras alimentares solúveis, mas o conteúdo pode variar significativamente entre as mais diversas amostras disponíveis.

Os sólidos solúveis são uma medida dos sólidos dissolvidos em uma solução aquosa. A escala Brix é uma escala numérica de índice de refração, calibrada em gramas de sacarose contidos em 100 g de solução. Os valores de sólidos solúveis das soluções aquosas das farinhas produzidas variaram de 5,1 °Brix (A28 e A13) a 6,3 °Brix (A2) (Tabela I 5). Apesar das farinhas terem sido produzidas a partir de cascas de jabuticaba, parte da polpa aderida às cascas também foi processada. Embora todas as frutas estivessem maduras (cascas pretas), foram identificadas variações no teor de açúcar. O pH das soluções de farinhas de casca de jabuticaba variou ligeiramente de pH = 3,09 (A8) a pH = 3,44 (A27) (Tabela I 4).

**Tabela I 5- Teores de sólidos solúveis e pH das FCJ**

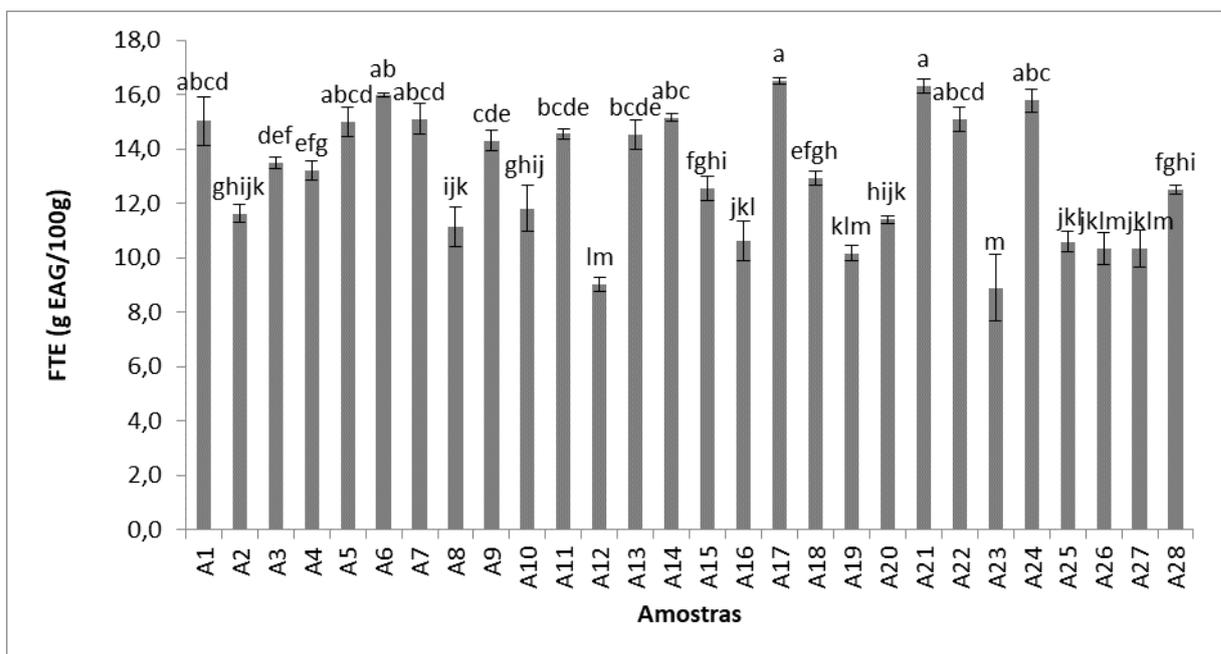
<b>Amostras</b>	<b>Sólidos solúveis (°Brix)</b>	<b>pH</b>
<b>A1</b>	5,4 ± 0,3 <sup>ijklm</sup>	3,11 ± 0,06 <sup>jk</sup>
<b>A2</b>	6,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	3,40 ± 0,07 <sup>abc</sup>
<b>A3</b>	5,7 ± 0,1 <sup>ghij</sup>	3,21 ± 0,06 <sup>efghijk</sup>
<b>A4</b>	5,6 ± 0,1 <sup>ghij</sup>	3,38 ± 0,06 <sup>abcd</sup>
<b>A5</b>	5,6 ± 0,1 <sup>ghijk</sup>	3,36 ± 0,06 <sup>abcd</sup>
<b>A6</b>	6,0 ± 0,1 <sup>abcde</sup>	3,41 ± 0,04 <sup>ab</sup>
<b>A7</b>	5,5 ± 0,1 <sup>ghijk</sup>	3,12 ± 0,06 <sup>jk</sup>
<b>A8</b>	5,8 ± 0,1 <sup>cdefgh</sup>	3,09 ± 0,06 <sup>k</sup>
<b>A9</b>	5,6 ± 0,1 <sup>ghijk</sup>	3,13 ± 0,06 <sup>ijk</sup>
<b>A10</b>	5,7 ± 0,1 <sup>ghij</sup>	3,19 ± 0,07 <sup>efghijk</sup>
<b>A11</b>	6,2 ± 0,1 <sup>ab</sup>	3,41 ± 0,03 <sup>ab</sup>
<b>A12</b>	6,1 ± 0,2 <sup>abcd</sup>	3,30 ± 0,03 <sup>abcdefg</sup>
<b>A13</b>	5,1 ± 0,1 <sup>lm</sup>	3,20 ± 0,04 <sup>efghijk</sup>
<b>A14</b>	5,3 ± 0,1 <sup>klm</sup>	3,15 ± 0,03 <sup>hijk</sup>
<b>A15</b>	5,4 ± 0,1 <sup>ijkl</sup>	3,18 ± 0,06 <sup>efghijk</sup>
<b>A16</b>	6,1 ± 0,1 <sup>abcd</sup>	3,27 ± 0,03 <sup>bcdefghi</sup>
<b>A17</b>	5,7 ± 0,1 <sup>efghij</sup>	3,19 ± 0,04 <sup>efghijk</sup>
<b>A18</b>	5,6 ± 0,1 <sup>ghij</sup>	3,31 ± 0,03 <sup>abcdefg</sup>
<b>A19</b>	5,6 ± 0,1 <sup>efghijk</sup>	3,32 ± 0,02 <sup>abcdef</sup>
<b>A20</b>	5,7 ± 0,2 <sup>defghij</sup>	3,28 ± 0,04 <sup>bcdefgh</sup>
<b>A21</b>	6,1 ± 0,1 <sup>abcd</sup>	3,24 ± 0,03 <sup>defghij</sup>
<b>A22</b>	5,5 ± 0,3 <sup>hijk</sup>	3,16 ± 0,02 <sup>ghijk</sup>
<b>A23</b>	5,9 ± 0,1 <sup>bcdef</sup>	3,26 ± 0,03 <sup>cdefghij</sup>
<b>A24</b>	5,8 ± 0,1 <sup>cdefghi</sup>	3,20 ± 0,02 <sup>efghijk</sup>
<b>A25</b>	5,9 ± 0,1 <sup>cdefg</sup>	3,29 ± 0,09 <sup>bcdefgh</sup>
<b>A26</b>	5,8 ± 0,1 <sup>cdefgh</sup>	3,09 ± 0,02 <sup>k</sup>
<b>A27</b>	6,1 ± 0,1 <sup>abc</sup>	3,44 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>A28</b>	5,1 ± 0,1 <sup>m</sup>	3,33 ± 0,02 <sup>abcde</sup>

Médias seguidas de mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si a 5% de significância; (n=3).

### 3.2 Conteúdos de fenólicos totais extraíveis, polifenóis não extraíveis, antocianinas, carotenoides e clorofilas

Os teores de fenólicos totais extraíveis (FTE) são mostrados na Figura I 3. Uma avaliação dos gráficos mostra uma grande variabilidade entre as amostras. Os teores de FTE variaram de 8,90 g EAG/100 g (A23) a 16,49 g EAG/100 g (A17), uma variação de cerca de 85%. Essa variação também foi observada para dados da literatura sobre os teores de FTE de cascas de jabuticaba, que variaram de 3,02 g EAG/100 g (GURAK *et al.*, 2014) a 12,1 g EAG/100 g (INADA *et al.*, 2015). Embora existam diferenças na quantidade e concentração dos solventes de extração dependendo do estudo, os resultados deste trabalho indicam que as diferenças no conteúdo são inerentes às amostras. A variedade de compostos fenólicos também é expressiva, conforme demonstrado por Albuquerque *et al.* (2020), que identificou quatorze compostos fenólicos não antocianínicos por HPLC em extrato de casca de jabuticaba.

**Figura I 3- Gráfico dos conteúdos de fenólicos totais extraíveis das FCJ**

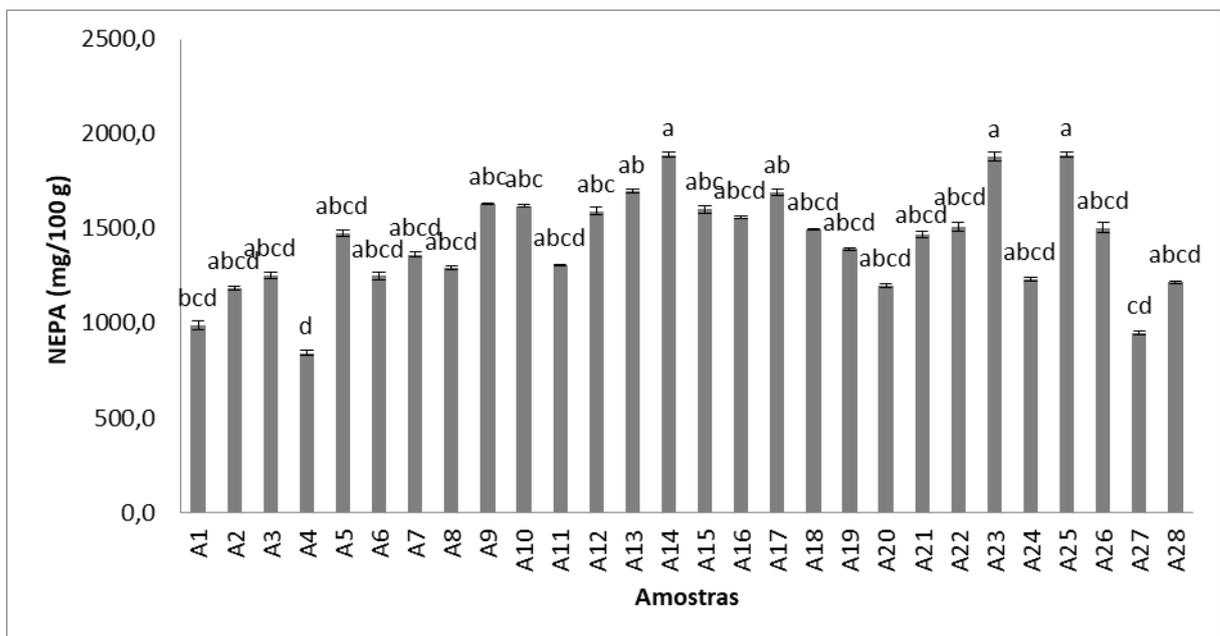


Quando comparadas aos demais resíduos do processamento de frutas, as farinhas de casca de jabuticaba se mostram importantes fontes de compostos fenólicos. Mesmo as amostras que apresentaram as menores quantidades de fenólicos têm teores elevados em comparação à farinha de bagaço de uva de vinho tinto (4,11 g EAG/100 g) (URQUIAGA *et*

*al.*, 2015) e farinha de casca de buriti branqueada (0,93 g EAG/100 g) (RESENDE *et al.*, 2019). As amostras com maiores valores apresentaram teores fenólicos comparáveis aos da casca de pequi (epicarpo e mesocarpo) (17,42 g EAG/100 g), valores estes que estão entre os mais elevados descritos na literatura (LEÃO *et al.*, 2017).

Os conteúdos totais de polifenóis não extraíveis variaram de 842,88 mg/100 g (A4) a 1889,06 mg/100 g (A14) (Figura I 4). Esses valores são altos em comparação a feijão cozido (591 mg/100 g) e maçã com casca (55 mg/100 g) (ZURITA *et al.*, 2012), bem como cascas de pequi (216-347 mg/100 g) (LEÃO *et al.*, 2017). É importante ressaltar que as concentrações de polifenóis não extraíveis confirmam que a maioria dos compostos fenólicos não é avaliada no descarte dos resíduos das extrações. Esses compostos, ligados à fibra alimentar, chegam ao cólon onde, pela ação da microbiota sobre os polissacarídeos, são liberados da matriz e transformados em pequenos metabólitos que podem ser absorvidos ou permanecer no cólon atuando como antioxidantes (PÉREZ-JIMÉNEZ; TORRES, 2011).

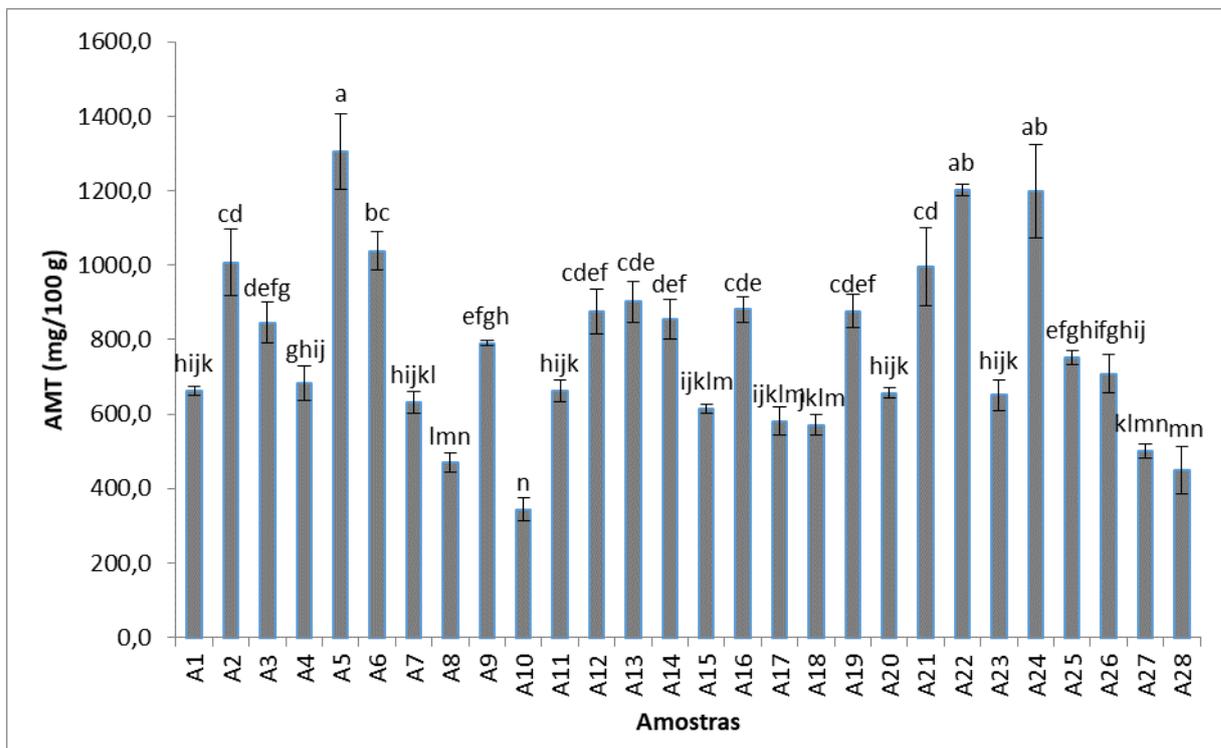
**Figura I 4- Gráfico dos conteúdos de proantocianidinas das FCJ**



Os conteúdos de AMT variaram de 344,00 mg/100 g (A10) a 1304,52 mg/100 g (A5) (Figura I 5), uma variação de aproximadamente 280%. Esses valores estão na mesma faixa dos relatados para cascas de jabuticaba liofilizadas submetidas a diferentes processos de extração: 630,46 mg/100 g [extração com metanol 70% (v/v)] e 404,56 mg / 100 g (água fervente) (LENQUISTE *et al.*, 2015). Neste trabalho optou-se pela extração com acetona e

sua partição com clorofórmio, com a concentração das antocianinas na fase aquosa e a remoção de lipídios, clorofilas e outros compostos insolúveis em água, conforme recomendam Giusti e Wrolstad (2001). As antocianinas são os compostos de maior destaque na jabuticaba, sendo responsáveis pela cor das cascas frescas e da polpa processada. As concentrações de AMT nas farinhas produzidas são altas em comparação com aquelas de tipos semelhantes de resíduos: farinha de bagaço de uva para vinho (149 mg/100 g) (URQUIAGA *et al.*, 2015) e farinha de arroz preto (*Oryza sativa* L.) (56,8 mg/100 g) (ROCCHETTI *et al.*, 2017).

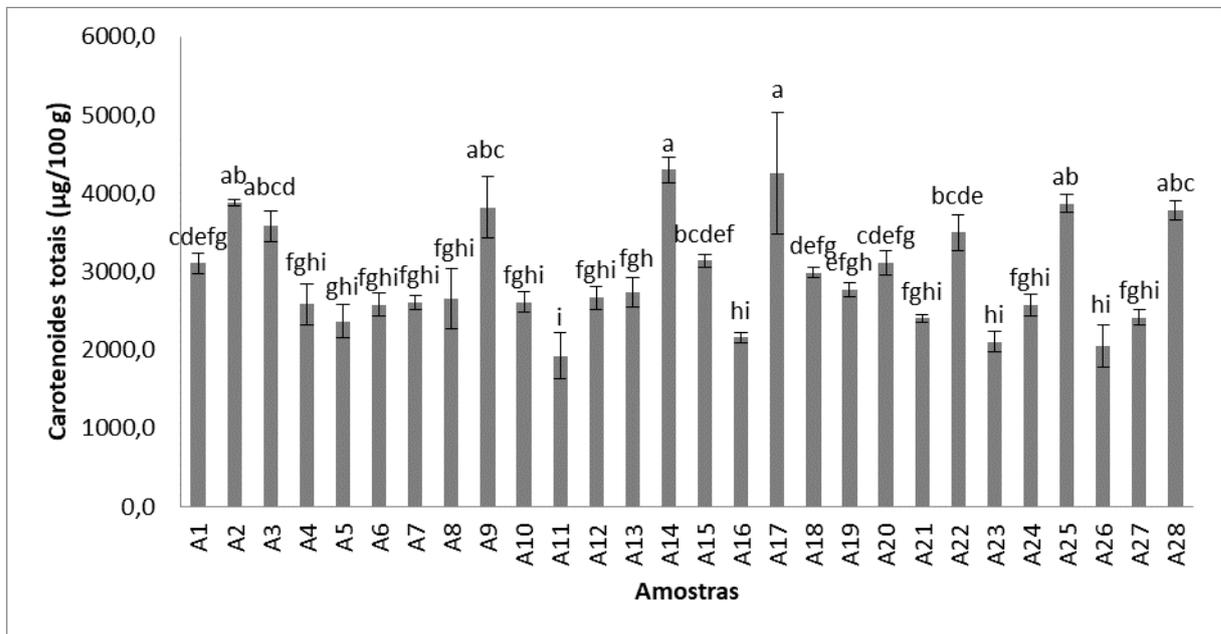
**Figura I 5- Gráfico dos conteúdos de antocianinas monoméricas totais das FCJ**



Quantidades significativas de carotenoides também foram encontradas nas farinhas produzidas (Figura I 6). As concentrações de carotenoides totais variaram de 1925,22  $\mu\text{g}/100$  g (A11) a 4296,41  $\mu\text{g}/100$  g (A14), com variação de cerca de 123%. Este é o primeiro estudo que mostra a variabilidade dos carotenoides totais entre as cascas de jabuticaba. Batista *et al.*, (2017) relataram 2870  $\mu\text{g}$  de carotenoides totais por 100 g de cascas de jabuticaba também secas em estufa convectiva. As concentrações totais de carotenoides encontradas nas farinhas produzidas estão dentro da faixa relatada para outras farinhas feitas com resíduos, como de

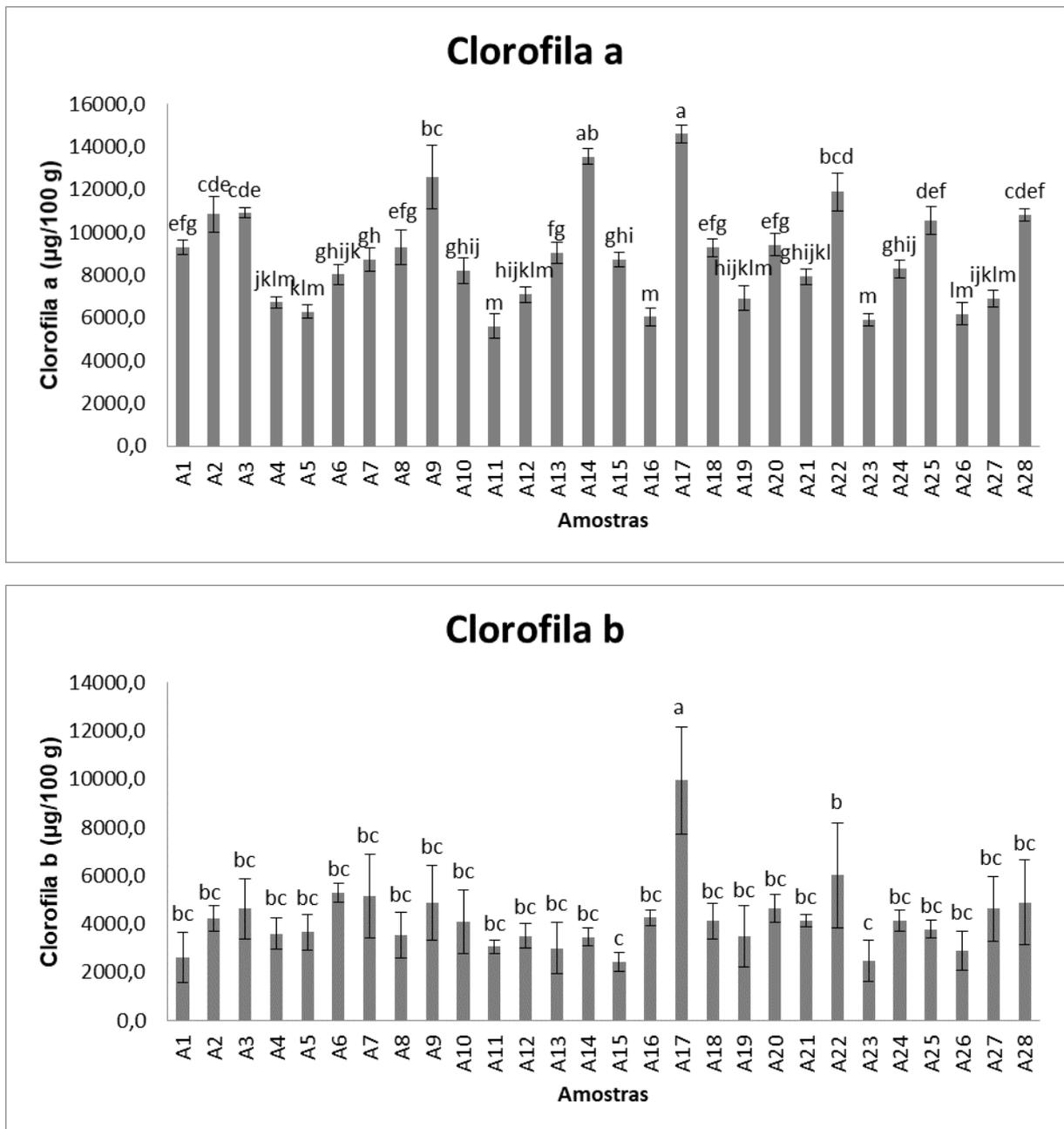
pequi (epicarpo e mesocarpo) (3499,03  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) (LEÃO *et al.*, 2017) e casca de buriti (1186,7  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) (RESENDE *et al.*, 2019).

**Figura I 6- Gráfico dos conteúdos de carotenoides totais das FCJ**



Os conteúdos de clorofilas estão indicados na Figura I 7. Conforme explicam Lichtenthaler e Buschmann (2001), os conteúdos de clorofilas dependem de vários fatores, incluindo tipo de vegetal, condições de crescimento, estágio de maturação e processamento dos alimentos. Desses, apenas as condições de crescimento são desconhecidas no presente trabalho, visto serem todas amostras de cascas de jabuticaba, colhidas maduras e processadas em farinha pelo mesmo método. Os autores citam que durante o amadurecimento dos frutos, que passam de verde a outras cores, a razão entre a soma das clorofilas *a* e *b* pelo total de carotenoides diminui continuamente (Lichtenthaler e Buschmann, 2001). Zude-Sasse; Truppel e Herold (2002) discutem que o teor de clorofila da casca das frutas fornece a cor de fundo da fruta, tendo observado redução do conteúdo de clorofila *a* durante o desenvolvimento de maçãs. As concentrações de clorofila *a* variaram de 5607,91  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  (A11) a 14602,40  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  (A17) e de clorofila *b* de 2422,90  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  (A15) a 9944,60  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  (A17).

Figura I 7- Gráficos dos conteúdos de clorofilas das FCJ



### 3.3 Análise de FTIR

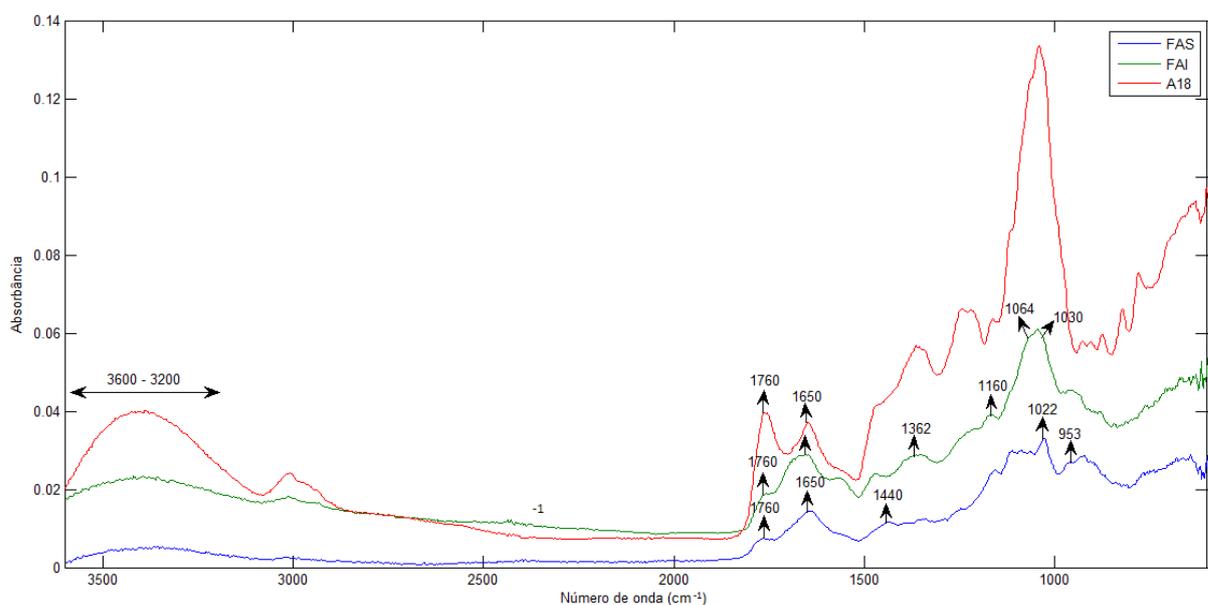
Os espectros FTIR de uma amostra de farinha de casca de jabuticaba (A18) e suas frações FAI e FAS são mostrados na Figura I 7. Nos espectros de FAS e FAI, as bandas em

3600 a 3200  $\text{cm}^{-1}$  são mais discretas do que na amostra de farinha e correspondem ao alongamento O-H e podem ser atribuídas à umidade (Barbosa, 2007). As bandas na região 1760-1650  $\text{cm}^{-1}$  são características de grupos carboxila esterificados e não esterificados em pectinas e estão presentes nas amostras de FAS e farinha. Outros picos relacionados à pectina podem ser vistos em FAS: 1440  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento assimétrico de vibração de ésteres metílicos); 1022  $\text{cm}^{-1}$  e 953  $\text{cm}^{-1}$  (vibrações do anel) (KACURÁKOVÁ *et al.*, 2000)

No espectro de FAI, 1650  $\text{cm}^{-1}$  (deformação angular N-H das amidas) e 1760  $\text{cm}^{-1}$  (ligação carbonila) podem estar relacionados tanto a proteínas não digeridas quanto a enzimas. No espectro de FAI, também podem ser observados picos atribuídos à celulose: 1362  $\text{cm}^{-1}$  (flexão  $\text{CH}_2$ ), 1160  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento assimétrico O-C-O) e 1030  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-O, estiramento C-C); e hemicelulose: 1362  $\text{cm}^{-1}$  (flexão  $\text{CH}_2$ , xiloglucano), 1064  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-O) e 1041  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-O-C, glicosídico) (CHYLIŇSKA *et al.*, 2016).

A presença de compostos fenólicos foi atribuída à observação simultânea de três bandas: 3600-3200  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento O-H), 1410-1320  $\text{cm}^{-1}$  e 1260-1180  $\text{cm}^{-1}$ , resultante da interação da deformação angular de O-H e estiramento C-O (BARBOSA, 2007).

**Figura I 8- Imagens dos espectros FTIR de FCJ (vermelho) e das frações de fibra alimentar insolúvel (verde) e solúvel (azul)**



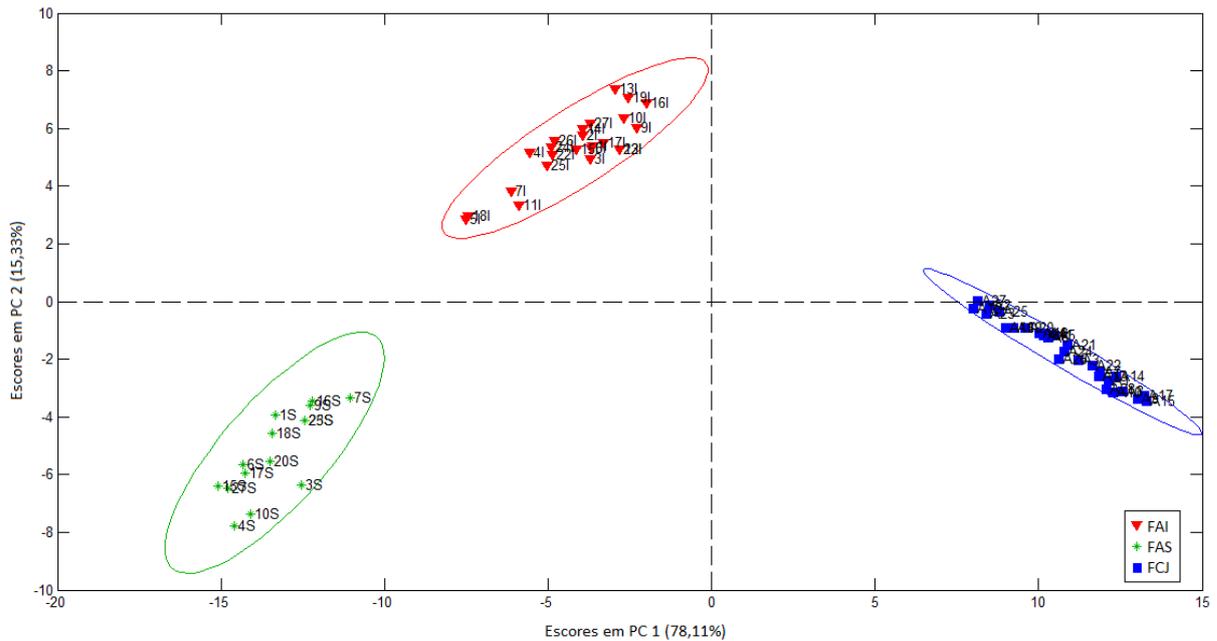
Os dados FTIR (800-1800  $\text{cm}^{-1}$ ) da FCJ e frações de fibra alimentar foram submetidos à correção de linha de base (por mínimos quadrados ponderados), SNV e foram centrados na média. Os dados processados foram usados para análise de componentes principais (PCA).

PC1 explicou 78,11% da variabilidade dos dados e PC2 explicou 15,33% (Figura I 8). A separação das amostras de farinhas (lado positivo de PC1) das frações de fibra alimentar (lado negativo de PC1) pode ser vista ao longo do eixo de PC1.

Por meio do gráfico dos *loadings* (não mostrado) foi possível identificar quais números de onda mais contribuíram para a separação das amostras. No lado positivo do PC1, os números de onda atribuídos às vibrações de ligação das moléculas presentes nas farinhas foram identificados como: 1750  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}=\text{O})$  de ácidos graxos); 1660  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}=\text{C}$  *cis* dos ácidos graxos) e 1655  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}=\text{O}) + \omega(\text{N}-\text{H})$  da amida I, em proteínas) (SCHULZ; BARANSKA, 2007). Do lado negativo de PC1, os números de onda mais importantes foram atribuídos às vibrações das ligações moleculares presentes nas frações da fibra alimentar, incluindo aquelas atribuídas às pectinas: 1107  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CO})$ ,  $\nu(\text{CC})$ , anel); 1150  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{COC})$ , anel); 1605  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ ) (SCHULZ & BARANSKA, 2007); 1093  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CC})(\text{CO})$ , anel) (CHYLIŃSKA *et al.*, 2016); 1146  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{O}-\text{C}-\text{O}_{\text{as}})$ ); (SZYMANSKA-CHARGOT; ZDUNEK, 2013); celulose: 895  $\text{cm}^{-1}$  (deformação angular C1-H); 1160  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{COC})$  glicosídico) (CHYLIŃSKA *et al.*, 2016) e 1110  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CC})$ ,  $\nu(\text{CO})$  no anel) (SCHULZ & BARANSKA, 2007); e hemicelulose (xiloglucana): 944  $\text{cm}^{-1}$  (vibração do anel); 1130  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{O}-\text{C}-\text{O}_{\text{as}})$  e 1075  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CC})(\text{CO})$  no anel) (SZYMANSKA-CHARGOT & ZDUNEK, 2013). PC2 separa as frações FAI (lado positivo) de FAS (lado negativo), principalmente. As amostras FCJ estão no lado negativo e mais perto do centro. O gráfico de *loadings* de PC2 mostra valores negativos característicos do FAI: 1035  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CO})$ ,  $\nu(\text{CC})$ ,  $\nu(\text{CCO})$  na celulose); 985  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{OCH}^3$  em celulose); 1655  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}=\text{O}) + \omega(\text{N}-\text{H})$  da amida I, em proteínas resistentes à digestão); 1064  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CO})$  da hemicelulose) e 1650  $\text{cm}^{-1}$  (vibrações de compostos aromáticos). O gráfico de *loadings* de PC2 mostra valores positivos característicos do FAS: 951  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta(\text{COH})$ ); 1093  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CC})(\text{CO})_{\text{anel}}$ ) e 1146  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{O}-\text{C}-\text{O}_{\text{as}})$ ); e FCJ: 1149 e 937  $\text{cm}^{-1}$  (vibrações da molécula de sacarose); e 962  $\text{cm}^{-1}$  (frutose em vibrações da molécula de sacarose) (BARBOSA, 2007; SCHULZ & BARANSKA, 2007; SZYMANSKA-CHARGOT & ZDUNEK, 2013; CHYLIŃSKA *et al.*, 2016).

A clara separação das amostras de farinha das frações de fibra dietética por PCA confirma o uso potencial de espectroscopia FTIR para análise de fibras.

**Figura I 9- Gráfico PC1 x PC2 dos dados FTIR de frações de fibra alimentar e de FCJ**



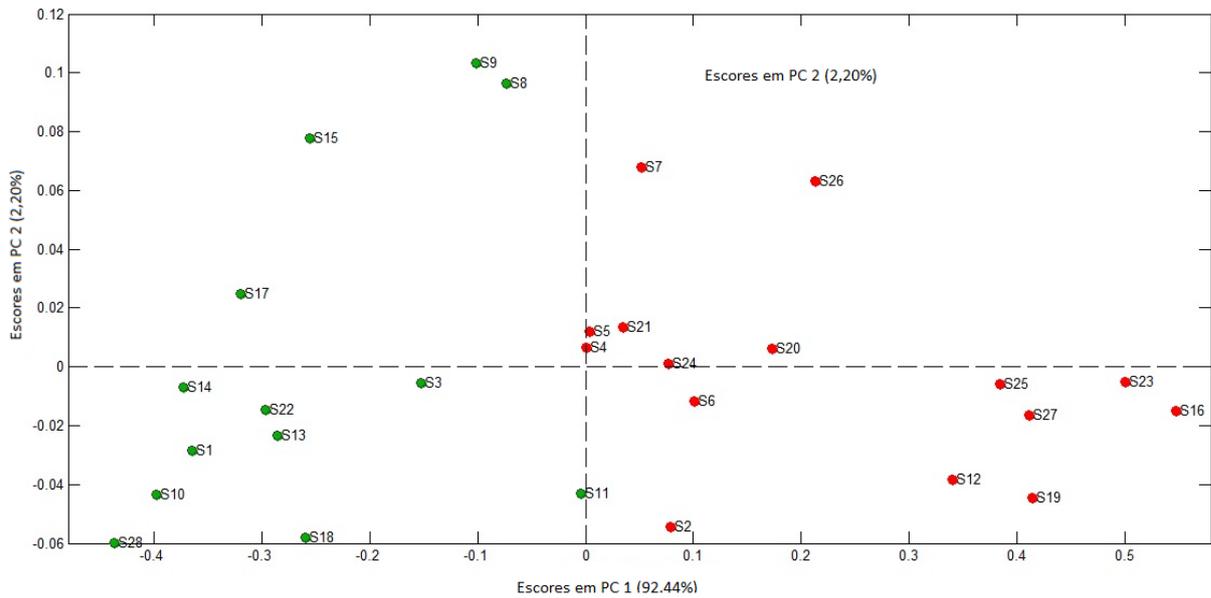
### 3.4. Avaliação comparativa de dados de FTIR e composição química

Amostras de um mesmo tipo de fruta classificada como madura podem apresentar variações em sua composição de acordo com a variedade, origem, características de cultivo, entre outros fatores. As espécies selvagens podem variar ainda mais de acordo com as adaptações biológicas e a falta de melhoria da cultura. Identificar como um conjunto de amostras semelhantes difere é um desafio. A PCA é uma análise pela qual é possível observar a diferenciação das amostras. A análise de FTIR envolve todos os compostos presentes em uma amostra. Portanto, os espectros FTIR completos são úteis para discriminar diferentes amostras. As análises de compostos específicos não cobrem toda a composição e negligenciam a proporção de compostos no material, sendo necessário identificar quais compostos são mais importantes para o conjunto de amostra de interesse.

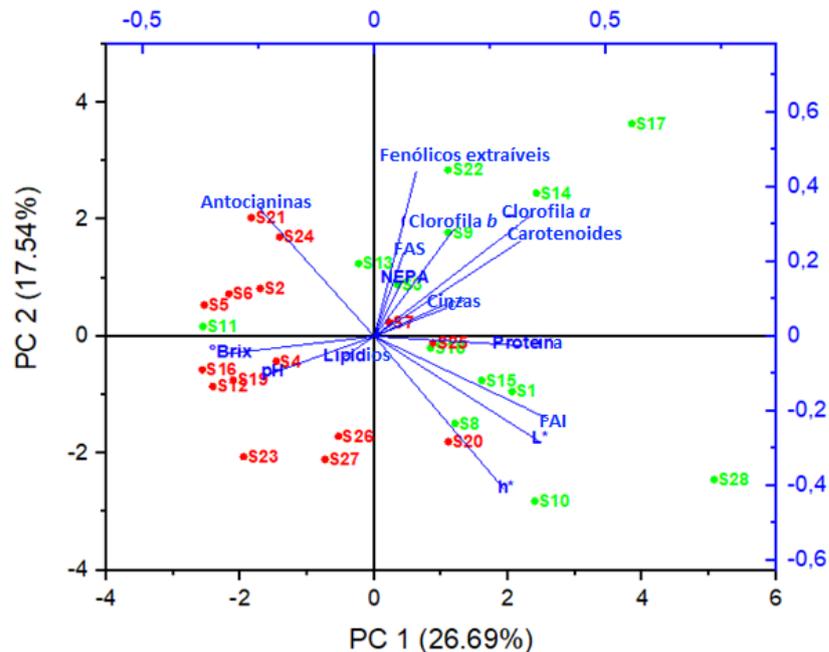
PCAs dos dados de FTIR e da composição química das farinhas produzidas (Figuras I 9 e I 10, respectivamente) fornecem uma separação semelhante da maioria das amostras (verde *vs.* vermelho). A PC1 da PCA dos dados de FTIR explica 92,44% da variabilidade e a PC2 explica 2,20% da variabilidade. A partir do gráfico de *loadings* de PC1 (dados não mostrados), observou-se que a região da impressão digital ( $1800\text{ cm}^{-1}$  a  $800\text{ cm}^{-1}$ ) teve maior influência na separação das amostras, seguida pela região em torno de  $3300\text{ cm}^{-1}$  (estiramento

O-H). A PC1 da PCA dos dados de composição química explicou 26,69% da variabilidade, enquanto a PC2 explicou 17,54% da variabilidade. É importante ressaltar que os dados de umidade foram omitidos nesta PCA, uma vez que a composição centesimal é apresentada em base seca, e a região de estiramento O-H (presente na água) tem grande influência no modelo de dados de FTIR.

**Figura I 10- Gráfico de PC1 vs. PC2 dos dados de FTIR**



**Figura I 11- Gráfico *biplot* PC1 vs. PC2 dos dados de composição química**



A avaliação da Figura I 10 indica que do lado negativo do PC1 estão as amostras que apresentaram maiores valores de °Brix, antocianinas e pH, e menores valores de clorofilas e fibras, sugerindo associação a um estágio de maturação mais avançado. Do lado positivo de PC1, estão as amostras que apresentaram maiores valores de fibras alimentares, clorofilas, carotenoides, FTE e polifenóis não extraíveis (NEPA), sugerindo associação a frutos que não atingiram a maturação plena. Durante o amadurecimento das frutas, vários processos bioquímicos ocorrem, incluindo degradação da clorofila e síntese de outros pigmentos, síntese de açúcares, redução da acidez (pela diminuição do teor de ácidos orgânicos que são usados como substratos no processo respiratório) e alterações de textura causadas pela decomposição de componentes da parede celular (celuloses, hemiceluloses e pectinas). Lee *et al.* (2015) quantificaram metabólitos primários e secundários presentes em frutos de *Lonicera caerulea* durante sete diferentes estádios de amadurecimento. Os autores observaram um aumento gradual dos açúcares após o estágio quatro e um aumento maior nas antocianinas após o estágio seis, além de maiores valores de conteúdo fenólico total no estágio um em comparação com os outros estádios. Os autores afirmam que a cor dos frutos e o teor de antocianinas e açúcares podem servir como indicativos do estágio de maturação dos frutos de *L. caerulea*. A avaliação da PCA em conjunto com a aplicação da correlação de Pearson indicou que FCJ com maiores teores de antocianina apresentou menores valores de luminosidade ( $r = -0,6986$ ;  $p = 0,0000$ ) e menor ângulo *Hue* ( $r = -0,6474$ ;  $p = 0,0002$ ), mesmo comportamento observado para frutos de *L. caerulea*. Portanto, a diferença de maturação, frutos mais e menos maduros, pode ser o principal fator de separação das amostras. No entanto, é importante considerar que a composição química das frutas também pode variar conforme outros fatores, como características do solo, exposição ao sol, disponibilidade de nutrientes, entre outros.

Também foram observadas as seguintes correlações moderadas entre fibras alimentares e compostos antioxidantes: entre as quantidades de FAS e NEPA ( $r = 0,44$ ;  $p < 0,05$ ) e entre o teor de FAI e os níveis de antocianinas ( $r = -0,45$ ;  $p < 0,05$ ).

É interessante notar que as amostras com os maiores teores de NEPA também apresentaram maiores quantidades de FAS, mas não de FAI. Não há justificativa na literatura para essa correlação. No entanto, essa relação é importante para a bioacessibilidade e biodisponibilidade de compostos bioativos. Esses compostos são sintetizados dentro das células vegetais, onde são armazenados em vacúolos. Durante o amadurecimento, a polimerização dos compostos pode ocorrer e as proantocianidinas aumentarão suas massas

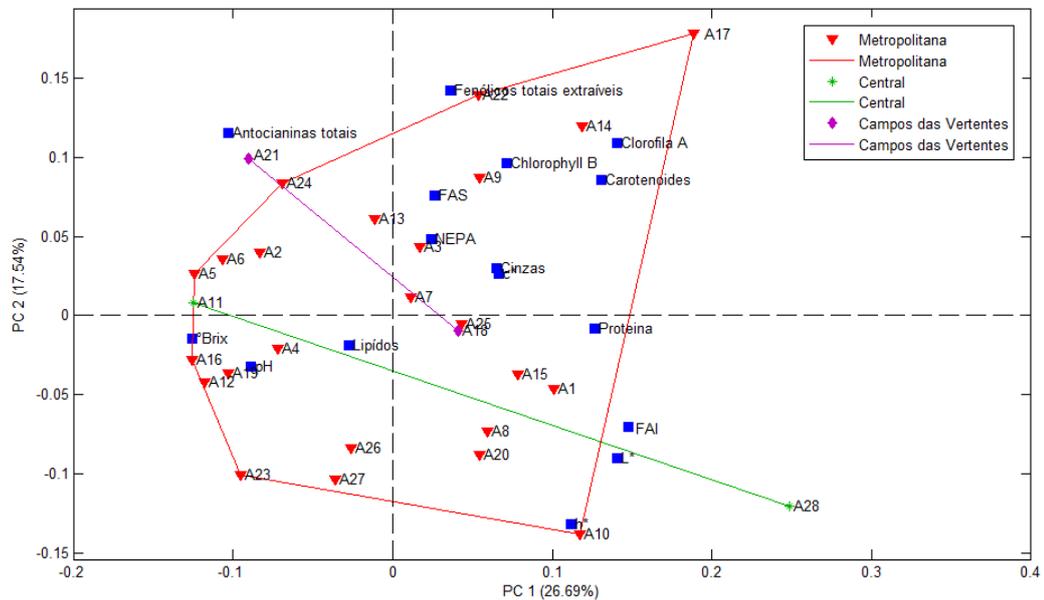
moleculares. Parte das proantocianidinas é transportada para a parede celular, onde interagem com polissacarídeos, principalmente pectinas, por ligações hidrofóbicas e de hidrogênio (RENARD, 2019). Após a ruptura celular durante o processamento de FCJ, os compostos são liberados dos vacúolos e ficam livres para interagir com as macromoléculas da parede celular. Devido às quantidades de FAS e compostos fenólicos e da afinidade química entre eles, a maior parte do NEPA possivelmente chegará ao cólon junto com as fibras, onde, pela ação da microbiota local, podem ser liberados, transformados e absorvidos ou agindo localmente. Renard, Watrelot e Le Bourvellec (2017) afirmam que a taxa de conversão de proantocianidinas em metabólitos ativos no cólon é maior na presença de fibras alimentares, que servem como substrato para os microrganismos colônicos responsáveis pela conversão. Assim, a associação entre FAS e proantocianidinas parece ser uma vantagem das FCJ, o que justifica vários resultados positivos após a ingestão de cascas de jabuticaba, descritos na literatura em estudo clínico (PLAZA *et al.*, 2016) e em pesquisas experimentais (BATISTA *et al.*, 2017; LAMAS *et al.*, 2018).

O conteúdo de antocianinas foi negativamente correlacionado com FAI ( $r = -0,45$ ). Essa correlação está associada ao estágio de maturação. A razão inversa entre fibra alimentar e antocianinas pode favorecer a absorção de antocianinas no trato gastrointestinal superior. Os mecanismos de absorção e digestão das antocianinas são muito complexos devido à instabilidade das antocianinas nas variações do pH. Assim, muitas vezes esses compostos são metabolizados e o que se observa é a absorção de seus metabólitos, como os ácidos fenólicos. No cólon, parece haver uma relação mútua entre as antocianinas e seus metabólitos com a microbiota, esta última participando da degradação das antocianinas, que por sua vez modulam os microrganismos colônicos, favorecendo o crescimento daqueles benéficos à saúde humana (HAN *et al.*, 2019).

As FCJ apresentam composições químicas que as diferenciam de acordo com o estágio de maturação, mesmo que todas as farinhas tenham sido produzidas a partir de frutos maduros. As farinhas feitas com cascas mais maduras têm menos fibra alimentar e mais antocianinas, e as farinhas feitas com cascas menos maduras têm mais fibra alimentar, NEPA, FTE e carotenoides. Mas todas as FCJ apresentam vantagens nutricionais, seja pela absorção de compostos bioativos no trato gastrointestinal superior, seja pela biodisponibilidade desses compostos no cólon. O sinergismo entre fibra alimentar e compostos bioativos também é relevante. As FCJ apresentam vantagens neste aspecto em relação a produtos semelhantes, como o bagaço de uva (URQUIAGA *et al.*, 2015) devido à sua composição em fibra alimentar e antioxidantes.

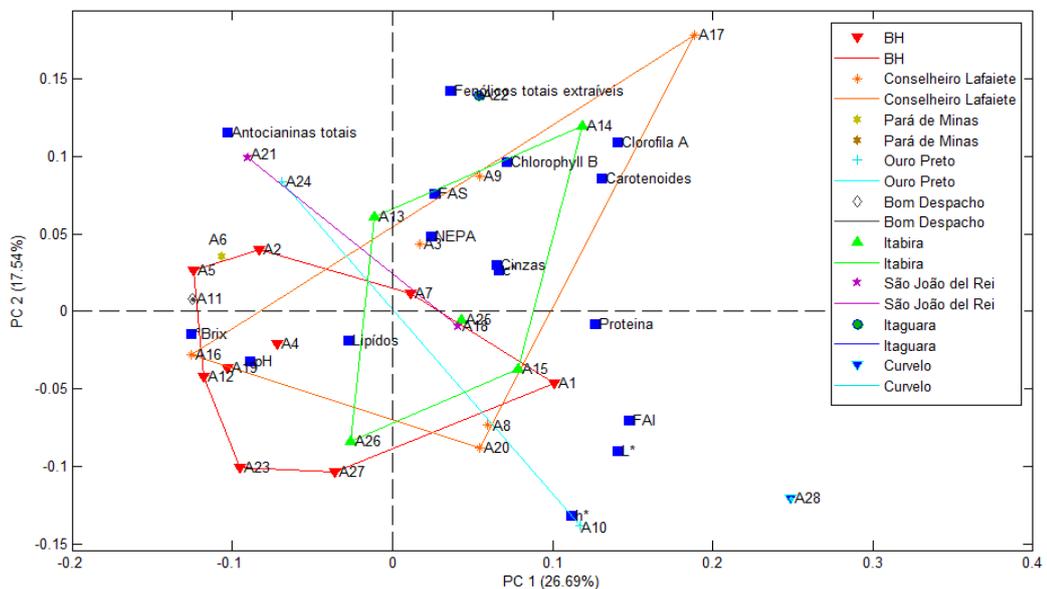
A origem geográfica das jabuticabas não apresentou influência sobre a separação de amostras, conforme pode ser observado nas Figuras I 11 e I 12, que mostram a classificação das cidades de origem por mesorregiões e microrregiões do estado de Minas Gerais.

**Figura I 12- Gráfico de PC1 vs. PC2 dos dados de composição química das FCJ classificadas segundo as mesorregiões de origem das jabuticabas**



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura I 13- Gráfico de PC1 vs. PC2 dos dados de composição química das FCJ classificadas segundo as microrregiões de origem das jabuticabas**



Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.5 Modelos quimiométricos (PLS)

As matrizes alimentares são conhecidas por sua complexidade e, portanto, abordagens multivariadas para análise de dados têm sido importantes para investigações alimentares. Os modelos PLS têm se mostrado eficazes para quantificar compostos em alimentos.

Assim, empregando os dados aqui obtidos por análise química convencional e espectros de FTIR de todas as amostras de farinha, quatro modelos PLS foram construídos para a determinação de FAI, FAS, FTE e AMT. A região de impressão digital dos espectros FTIR (1800 a 800  $\text{cm}^{-1}$ ) foi selecionada para a construção dos modelos. Inicialmente, foram selecionadas 21 amostras para o conjunto calibração (75% do total) e 7 amostras para o conjunto validação (25% do total) pelo método Kennard-Stone. Para o modelo FAI, uma amostra foi excluída do grupo de validação (A26) devido ao alto valor residual ( $Q$  residual = 29,8) após os pré-tratamentos. Os valores de referência obtidos pelos métodos convencionais foram centrados na média. Os dados FTIR foram submetidos aos seguintes pré-tratamentos: para os modelos FAI e FAS, correção da linha de base pela segunda derivada; para os modelos FTE e AMT, mínimos quadrados ponderados; para todos os modelos, SNV e centralização na média. Os modelos foram construídos com 3 a 6 variáveis latentes (VL), que juntas explicaram 60,48 - 98,59% da variação em **X** e 92,82 - 97,50% da variação em **Y**. Os parâmetros de calibração dos modelos PLS são apresentados na Tabela I 5. Todos os modelos PLS apresentaram erros de calibração e validação baixos e relações RMSEP/RMSEC abaixo de 3, indicando que não houve sobreajuste dos modelos.

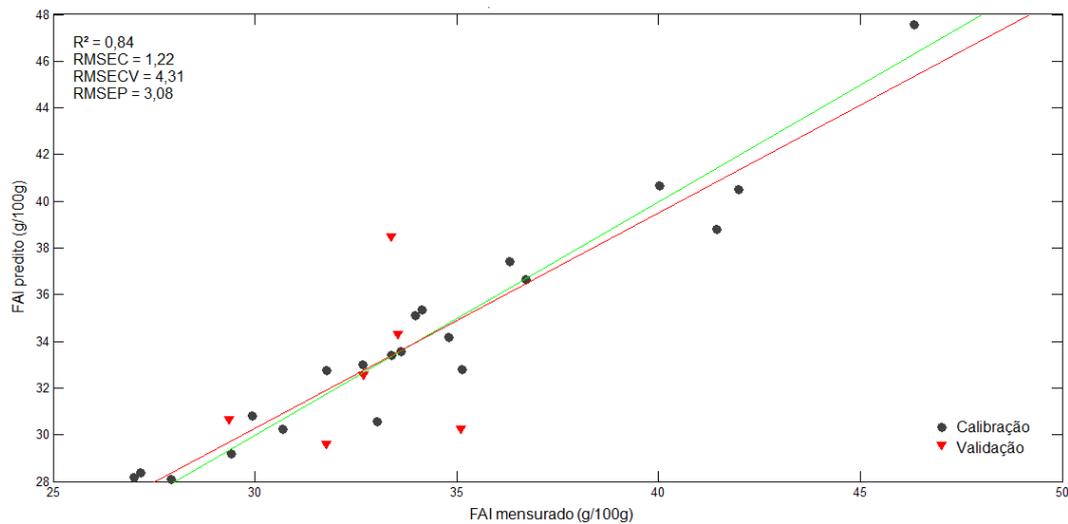
**Tabela I 6- Parâmetros de calibração dos modelos PLS para predição de fibras alimentares em FCJ**

Testes	LV	R <sup>2</sup>	RMSEC	RMSECV	RMSEP
<b>Fibra alimentar insolúvel</b>	3	0,84	1,22	4,31	3,08
<b>Fibra alimentar solúvel</b>	6	0,94	0,20	1,45	0,50
<b>Fenólicos totais extraíveis</b>	5	0,96	0,45	0,94	0,56
<b>Antocianinas monoméricas totais</b>	6	0,90	0,68	2,33	0,88

O modelo PLS para determinação de FAI foi construído com 3 VL, que juntas explicaram 60,48% da variação em **X** e 93,85% da variação em **Y**. O coeficiente de

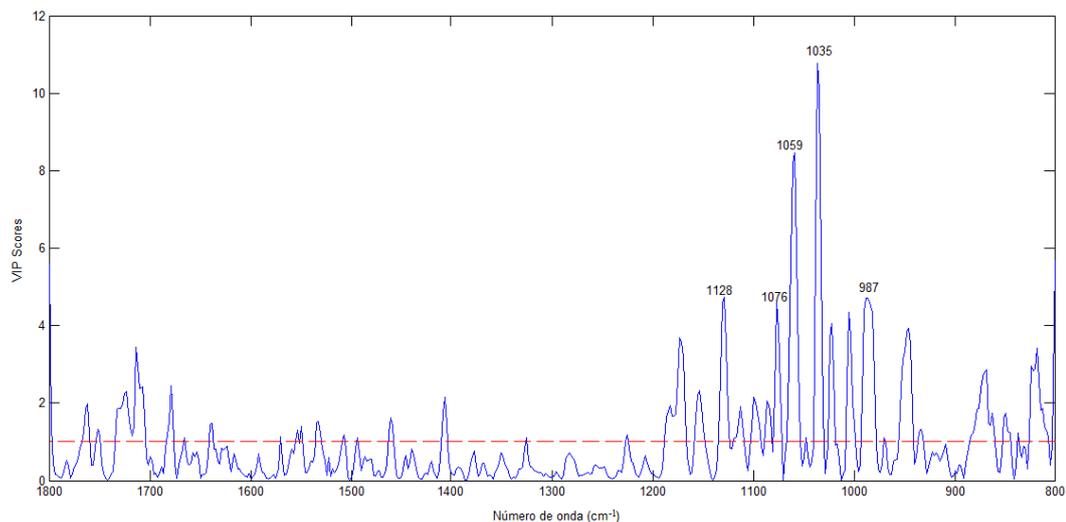
determinação ( $R^2$ ) foi de 0,84. A Figura I 13 mostra o gráfico de valores preditos por FTIR vs. os valores mensurados pelo método de referência e a Figura I 14 mostra o gráfico de VIP scores. A análise de VIP scores indicou que os números de onda que mais contribuíram para a estimativa de FAI foram aqueles atribuídos à celulose e hemiceluloses:  $985\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{OCH}_3$ ) para celulose,  $1034\text{ cm}^{-1}$  para arabinogalactana (Tipo II) e para glucomanana,  $1060\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CO})$ ,  $\nu(\text{CC})$ ,  $\delta(\text{OCH})$ ) para celulose, e  $1076\text{ cm}^{-1}$  para glucana (KACURÁKOVÁ *et al.*, 2000; SCHULZ & BARANSKA, 2007).

**Figura I 14- Gráfico dos valores preditos vs. mensurados de FAI**



Fonte: Dados da pesquisa.

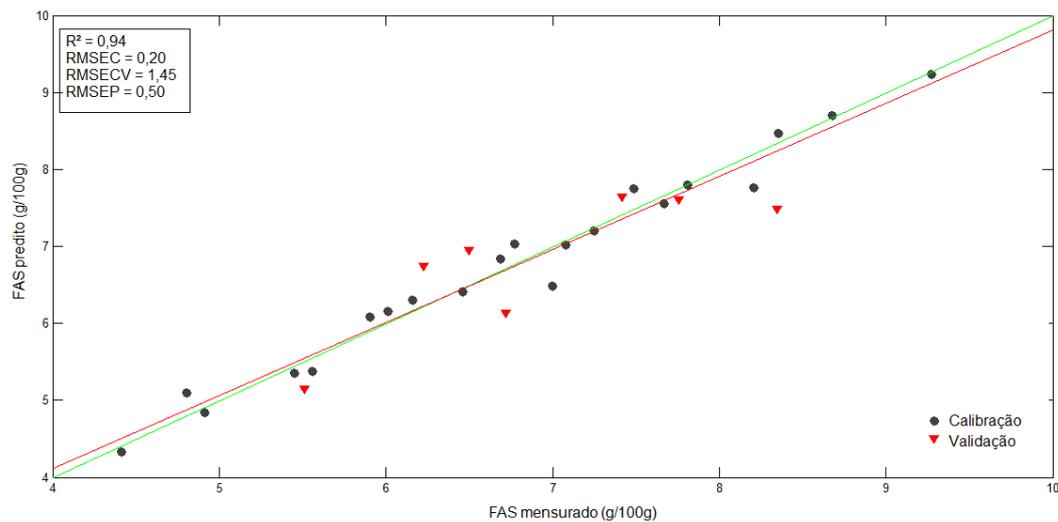
**Figura I 15- Gráfico de VIP scores de FAI**



Fonte: Dados da pesquisa.

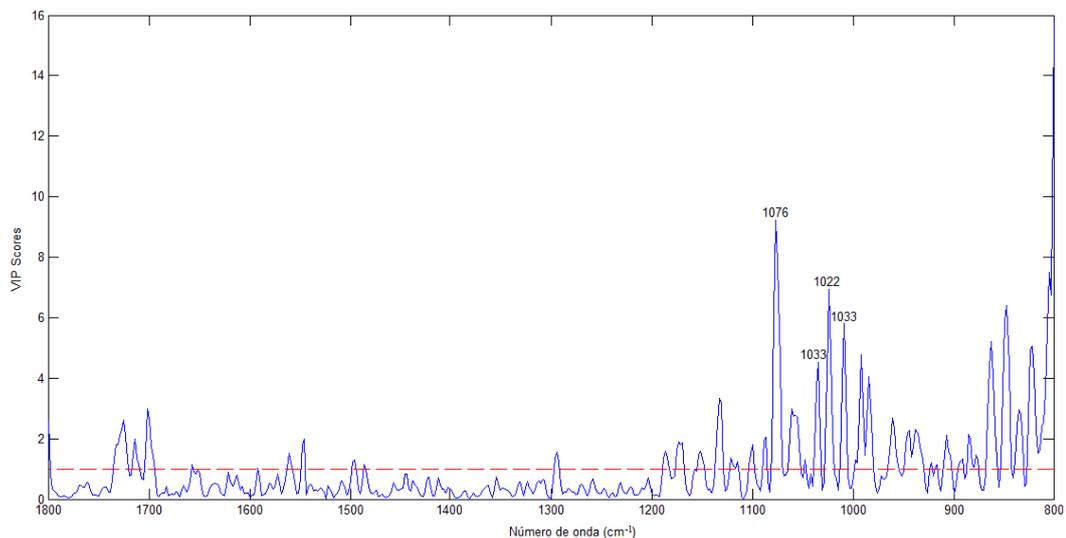
O modelo FAS foi construído com 6 VI, que juntas explicaram 76,02% da variação em **X** e 97,50% da variação em **Y**. O  $R^2$  foi de 0,94. A Figura I 15 mostra o gráficos de valores preditos vs. mensurados e a Figura I 16 mostra o gráfico de VIP scores. Os números de onda mais importantes para a estimativa de FAS, de acordo com os VIP scores, foram relacionados à pectina:  $1033\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CO})$ ,  $\nu(\text{CC})$ ,  $\nu(\text{CCO})$ ),  $1008\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{CO})$ ,  $\nu(\text{CC})$ ,  $\delta(\text{OCH})$ , anel) (SCHULZ & BARANSKA, 2007) e  $1022\text{ cm}^{-1}$ ; e também para glucana:  $1076\text{ cm}^{-1}$  (KACURÁKOVÁ *et al.*, 2000). É importante lembrar que as glucanas podem fazer parte das fibras solúveis ou insolúveis.

**Figura I 16- Gráfico dos valores preditos vs. mensurados de FAS**



Fonte: Dados da pesquisa.

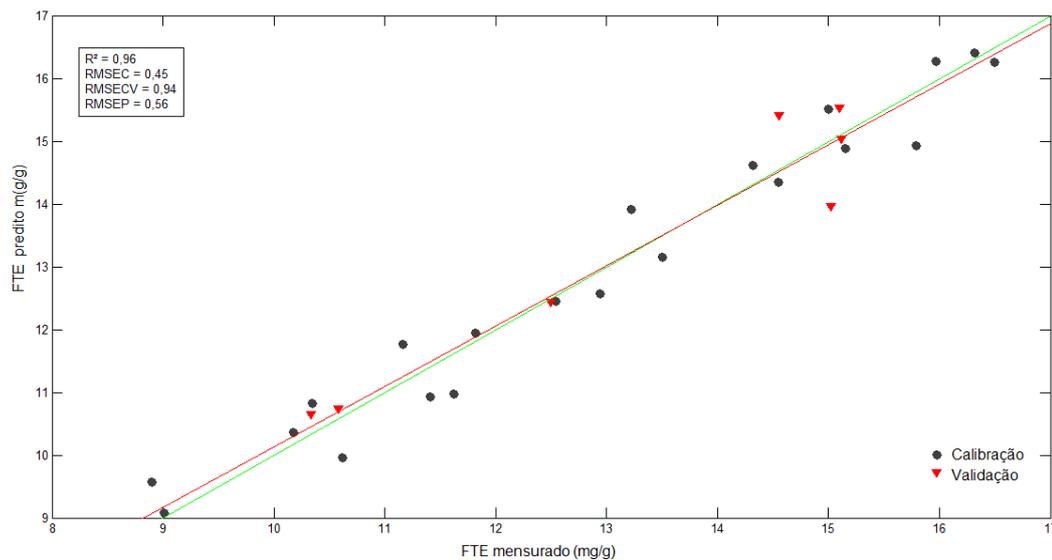
**Figura I 17- Gráfico de VIP scores de FAS**



Fonte: Dados da pesquisa.

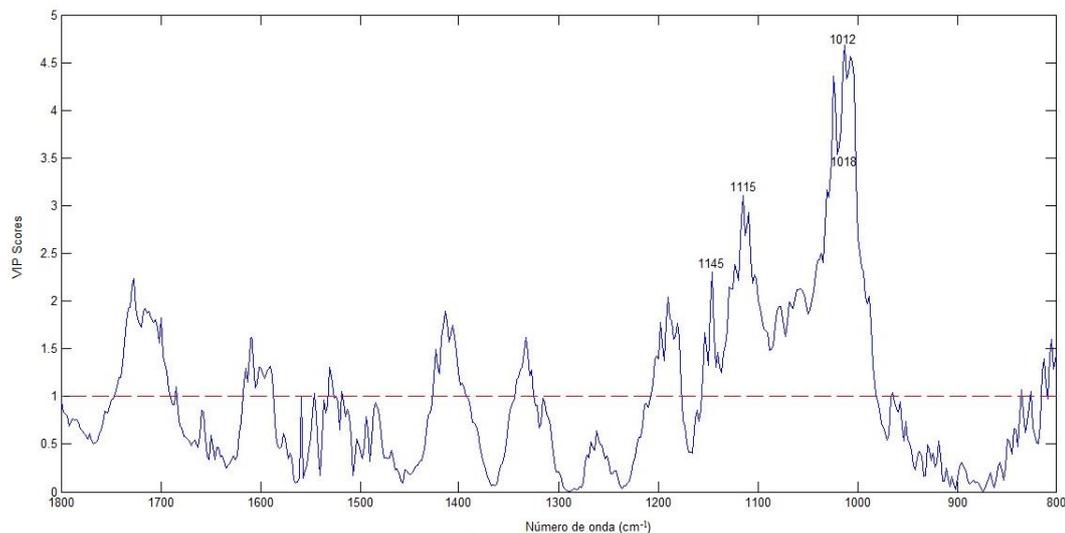
O modelo de determinação do FTE foi construído com 5 VL, que juntas explicaram 98,38% da variação de **X** e 96,31% da variação de **Y**. O  $R^2$  foi de 0,96. A Figura I 17 mostra o gráfico de valores preditos vs. mensurados e a Figura I 18 mostra o gráfico de VIP scores. Entre os números de onda que mais contribuíram para a estimativa estão alguns muito próximos das bandas encontradas em (+) - catequina pura (1018  $\text{cm}^{-1}$  e 1112  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao alongamento C–O e C–C, e 1143  $\text{cm}^{-1}$  (C–OH de fenil) (HU *et al.*, 2016). Este é o melhor modelo deste estudo.

**Figura I 18- Gráfico dos valores preditos vs. mensurados de FTE**



Fonte: Dados da pesquisa.

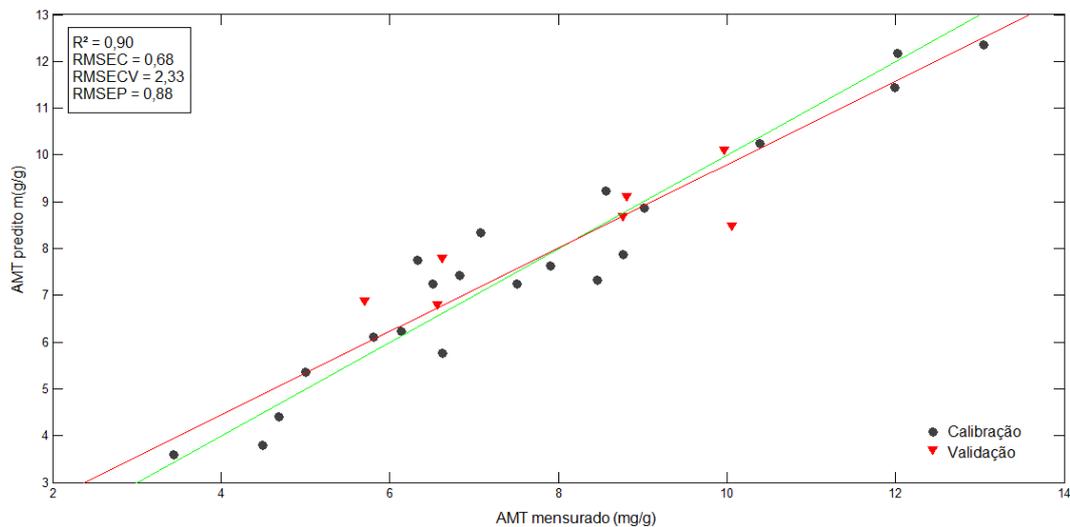
**Figura I 19- Gráfico de VIP scores de FTE**



Fonte: Dados da pesquisa.

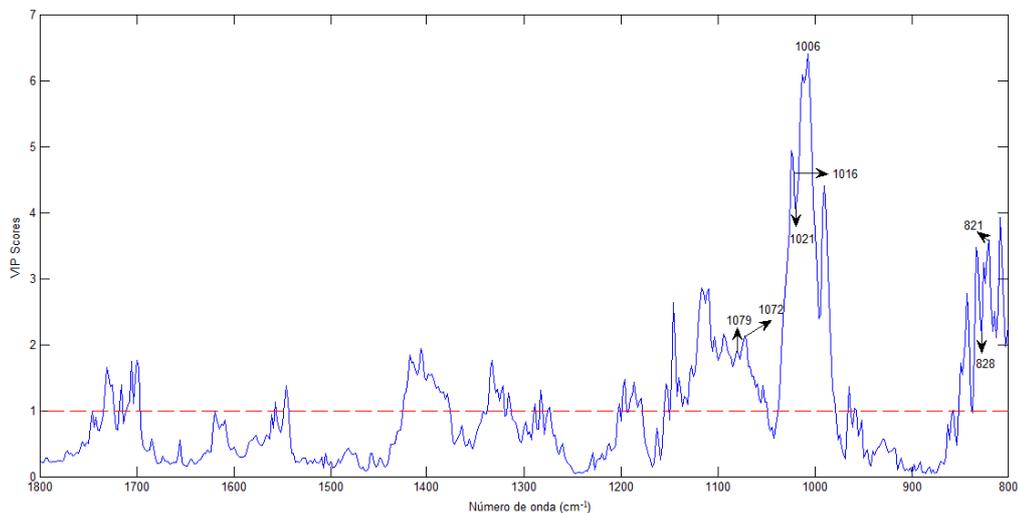
O modelo PLS para determinação do teor de antocianina (AMT) foi construído com 6 VL, que juntas explicaram 98,59% da variação em **X** e 92,82% da variação em **Y**. O coeficiente de determinação foi de 0,90. A Figura I 19 mostra o gráficos de valores preditos vs. mensurados e a Figura I 20 mostra o gráfico de *VIP scores*. O número de onda que mais influenciou na estimativa foi  $1006\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser atribuído às vibrações de alongamento do C–O nos polissacarídeos. Outras bandas que também influenciaram o modelo foram identificadas em padrões de antocianinas, como: cianidina-3-*O*-glucosídeo ( $1079$ ,  $1016$  e  $828\text{ cm}^{-1}$ ), cianidina-3-*O*-sambubiosídeo ( $1021$  e  $821\text{ cm}^{-1}$ ) e delphinidin-3-*O*-sambubioside ( $1072\text{ cm}^{-1}$ ) (CHOONG *et al.*, 2019).

**Figura I 20- Gráfico dos valores preditos vs. mensurados de AMT**



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura I 21- Gráfico de *VIP scores* de AMT**



Fonte: Dados da pesquisa.

É importante ressaltar que as antocianinas monoméricas totais foram analisadas considerando a absorção máxima de cianidina-3-*O*-glicosídeo. No entanto, outras antocianinas, cujas estruturas são bastante semelhantes, também podem estar presentes. É importante ressaltar que as antocianinas são frequentemente os compostos de maior interesse em cascas de jabuticaba e seus conteúdos puderam ser satisfatoriamente previstos por espectroscopia de FTIR em associação com modelos quimiométricos.

Os modelos desenvolvidos a partir dos dados de FTIR com PLS tiveram bom desempenho na estimativa de FTE, AMT, FAS e FAI de farinhas de casca de jabuticaba. O desempenho dos modelos foi semelhante ao das técnicas analíticas de referência, que usam reagentes analíticos e são demoradas.

#### 4 CONCLUSÕES

As farinhas dos diferentes lotes de cascas de jabuticaba apresentaram diferenças significativas na composição química, correspondendo à expectativa para espécies selvagens. A PCA dos dados sugere que a principal separação das amostras possa ser em relação à maturação dos frutos, separando-os em mais e menos maduros. A aplicação da correlação de Pearson indicou altas correlações negativas entre os conteúdos de antocianinas e os parâmetros de cor  $L^*$  e  $h^\circ$ , indicando que quanto mais escuras e vermelhas as farinhas, maiores as concentrações de antocianinas, como esperado. Correlação positiva moderada foi observada entre os valores de FAS e de NEPA. Os níveis de antocianinas foram negativamente correlacionados com FAI. Essas correlações indicam que compostos antioxidantes de diferentes FCJ estão sujeitos a diferentes estratégias de utilização pelo organismo humano. Devido à combinação de FAS e NEPA, FCJ apresentaram vantagem de uso em relação a produtos similares. Os dados de FTIR com modelo quimiométrico PLS permitiram a construção de modelos de predição dos conteúdos de FTE, AMT, FAS e FAI, cujos desempenhos foram semelhantes aos dos métodos convencionais. A técnica apresentada mostrou-se uma boa alternativa para análises rotineiras de composição dessas amostras.

## **CAPÍTULO 2**

### **IDENTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS EM FARINHAS DE CASCAS DE JABUTICABA (*Plinia* spp.) DE DIFERENTES LOTES E A PREDIÇÃO POR ANÁLISE DE FTIR**

## 1 INTRODUÇÃO

Os polifenóis compreendem uma classe diversa de compostos que apresentam atividade antioxidante e diferentes benefícios à saúde. São metabólitos secundários dos vegetais que ficam localizados, principalmente, nos vacúolos das células e atuam no sistema de defesa das plantas contra agressão de patógenos, alterações de temperatura, radiação ultravioleta, entre outros. Entre as principais fontes de polifenóis estão cacau e seus produtos, diferentes ervas secas e especiarias, frutas avermelhadas de cor escura, oliva, alcachofra, linhaça e oleaginosas como castanhas e nozes (MIHANFAR *et al.*, 2021; RENARD, 2019).

A jabuticaba (*Plinia* sp.) é uma das frutas de cor escura fonte de polifenóis, sobretudo antocianinas, responsáveis pela coloração roxo escuro a preto de suas cascas. Dois estudos recentes caracterizaram os polifenóis presentes em cascas de jabuticaba (NEVES *et al.*, 2021 & QUATRIN *et al.*, 2019). Na espécie *P. trunciflora*, Quatrin *et al.*, (2019) identificaram em maior quantidade os taninos hidrolisáveis, seguidos por antocianinas; e na *P. jaboticaba*, o conteúdo de antocianinas foi maior que o de taninos hidrolisáveis. O composto fenólico livre encontrado em maior quantidade nas duas espécies foi cianidina-3-glicosídeo (C3G). Neves *et al.* (2021) analisaram quatro espécies de jabuticaba e também encontraram maior quantidade de antocianinas na *P. jaboticaba*, sendo principalmente C3G e delphinidina-3-glucosídeo (D3G). Outros compostos como flavonóis derivados de quercetina e miricetina e grande variedade de derivados de ácido elágico e ácido metil elágico, também foram encontrados.

No entanto, é sabido que o conteúdo de polifenóis pode variar consideravelmente entre um mesmo tipo de alimento devido a condições ambientais. Em estudo anterior, foi identificada grande variação na quantidade de polifenóis totais extraíveis, antocianinas monoméricas totais, proantocianidinas e carotenoides totais em farinhas de cascas de jabuticaba (RESENDE, OLIVEIRA, & FRANCA, 2020). No entanto, Fernandes *et al.* (2014) destacam que a variação do teor de antocianinas ainda é muitas vezes negligenciada nos estudos e que ainda existe essa lacuna de conhecimento.

Foram encontrados na literatura estudos que comparam amostras de diferentes espécies, mas a investigação de polifenóis específicos de uma grande amostragem de cascas de jabuticaba ainda não foi descrita. É sabido que o conteúdo de polifenóis apresenta variação entre cascas de jabuticaba, mas o quanto pode variar entre amostras disponíveis para consumo

ainda não foi demonstrado. Lembrando que para tanto é importante que todas as amostras sejam avaliadas por um mesmo método e que os extratos dos polifenóis sejam realizados da mesma forma.

No entanto, a quantificação de polifenóis específicos exige um método de análise mais robusto. A cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) é amplamente usada para a identificação e quantificação de polifenóis. No entanto, trata-se de método de alto custo, demanda elevada de tempo, além de gerar resíduos tóxicos. Por isso, o uso da espectroscopia FTIR juntamente com modelos quimiométricos tem sido testado para predição de compostos cujo método de análise de referência é HPLC. Deus *et al.*, (2021) usaram FTIR e regressão por mínimos quadrados parciais (partial least squares - PLS) para quantificar aminas bioativas em chocolates escuros e obtiveram modelos com bom desempenho, especialmente para espermidina e triptamina. Também em chocolates, Hu *et al.* (2016) obtiveram bons modelos de predição de catequina e epicatequina empregando PLS e FTIR. A combinação desses dois métodos também demonstrou ser uma boa alternativa para a quantificação de antocianinas (SORIANO *et al.*, 2007) e elagitaninos (BASALEKOU *et al.*, 2019) em vinhos.

No entanto a maioria dos trabalhos ainda emprega espectroscopia em infravermelho para predição de polifenóis totais ou de uma classe deles, como antocianinas, cujas técnicas de referência empregam o uso de espectroscopia UV-visível (BALTACIOĞLU *et al.*, 2021; JOHNSON *et al.*, 2020; RESENDE *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2014; ZAREEF *et al.*, 2021). Estudos investigando a predição de compostos específicos, quantificados por cromatografia, ainda são poucos e nenhum até o momento foi apresentado para cascas de jabuticaba ou outro resíduo agroalimentar.

Portanto, os objetivos desse trabalho foram avaliar a composição de polifenóis específicos em farinhas de cascas de jabuticaba (FCJ), investigando o quanto o conteúdo desses compostos pode variar em amostras produzidas a partir de lotes diferentes de frutas disponíveis para consumo; e empregar FTIR juntamente com quimiometria para prever as concentrações desses polifenóis em FCJ. A possibilidade de uma avaliação mais simples e confiável desses compostos pode contribuir para análises de rotina diminuindo os custos, a geração de resíduos e o tempo empregado para análise.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

As 28 farinhas de casca de jabuticaba anteriormente preparadas (conforme Capítulo 1) foram utilizadas para a investigação de polifenóis.

Os produtos químicos ácido acético de grau de cromatográfico e padrões de polifenóis foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich. Etanol e metanol de grau de cromatográfico foram adquiridos das empresas Panreac AppliChem e Honeywell, respectivamente.

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Extração de polifenóis das farinhas de casca de jabuticaba (FCJ)

Os polifenóis foram extraídos de acordo com Barros *et al.* (2019) com adaptações. Resumidamente, 0,1 g de cada FCJ foi misturado com 5 mL de etanol 50% (v/v) acidificado com ácido acético (pH final  $3,0 \pm 0,1$ ) em tubos protegidos da luz e sonicados em banho ultrassônico por 60 min a cerca de 30 °C. Após o processo, os extratos foram centrifugados a 3500 rpm por 5 minutos e o restante do material foi misturado com etanol 50% (v/v) e centrifugado por 5 minutos. Esta etapa foi realizada duas vezes. Os sobrenadantes foram combinados e o pH foi ajustado para 3,0 quando necessário. O volume final da solução foi de 10 mL.

#### 2.2.2 Análise cromatográfica

Os compostos fenólicos foram investigados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPCL) de acordo com Plaza *et al.* (2016), com adaptações. Os extratos foram diluídos com água ultrapura (concentração final de 0,0025 g/mL) e filtrados em filtro de seringa de 0,22  $\mu\text{m}$ . A análise foi realizada usando um cromatógrafo com detector DAD (Shimadzu, Japão) e coluna de fase reversa C18 (tamanho de partícula de 5  $\mu\text{m}$ , 4,6  $\mu\text{m} \times 150$

mm) a 30 °C. O volume de injeção foi de 20 µL, e as fases móveis consistiram em ácido fórmico aquoso 0,5% (v/v) (solvente A) e 0,5% (v / v) de ácido fórmico em metanol (solvente B). O gradiente de eluição foi: 0 min, 5% (B); 0-5 min, 5% (B); 5-45 min, 50% (B); 45-53 min, 50% (B); com posterior limpeza e condicionamento da coluna. A taxa de fluxo foi de 0,6 mL/min. O detector UV-vis coletou o sinal a 520 nm e 350 nm. Os compostos foram identificados por comparação com os tempos de retenção e o espectro de padrões autênticos (cianidina-3-glucosídeo e ácido elágico) e o espectro registrado na literatura, no caso da delphinidina-3-glucosídeo. Os padrões foram usados para a construção de curvas de calibração para a quantificação dos compostos. D3G foi quantificada pela curva padrão da C3G, como feito por Plaza *et al.* (2016). Os compostos foram expressos em mg do polifenol/100 g de FCJ.

### 2.2.3 Análise FTIR

Amostras de todas as FCJ foram analisadas em espectrofotômetro FTIR, conforme descrito no Capítulo 1. Resumidamente, amostras com tamanho de partículas < 0,15 mm foram analisadas diretamente em espectrofotômetro FTIR-ATR, em atmosfera seca, a 20 °C. Após *background* com ar ambiente, os espectros foram gerados entre 4000 a 600 cm<sup>-1</sup>, nos quais foi feita correção atmosférica (gás carbônico e água) pelo *software* IRSolution. Novos espectros foram obtidos em período próximo às análises cromatográficas.

### 2.2.4 Análise estatística

Todas as amostras foram analisadas em triplicata. Os dados foram expressos em média ± desvio padrão e a normalidade foi verificada pelo método de Shapiro-Wilk. Diferenças significativas foram investigadas pelos testes ANOVA e Tukey, e pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis para D3G, com 95% de confiança (p <0,05), usando o software IBM SPSS Statistics, versão 19.

Correlações de Pearson foram feitas entre os valores obtidos para os polifenóis e os parâmetros de fenólicos totais extraíveis; antocianinas monoméricas totais; polifenóis não extraíveis e os parâmetros de cor luminosidade, croma e ângulo *Hue*, obtidos no Capítulo 1.

Análises de componentes principais (*Principal Component Analysis* - PCA) foram realizadas para avaliar semelhanças e diferenças entre as FCJ quanto ao conteúdo de polifenóis. Modelos de regressão PLS foram construídos para prever os conteúdos de polifenóis mensurados por cromatografia. Para essas análises foi utilizado o software MATLAB, versão R2009b (MathWorks, Natick, MA, EUA) e o PLS Toolbox versão 4.0 (Eigenvector Technologies, Wenatchee, WA, EUA). Os dados utilizados para PCA foram autoescalados. Para PLS, os dados espectrais foram submetidos às seguintes técnicas de pré-processamento: correção de linha de base, por 1ª ou 2ª derivadas; e padronização normal de sinal (*Standard Normal Variate* - SNV), para corrigir interferências relativas ao tamanho de partículas sólidas. Na sequência os dados foram centrados na média. Os valores de referência (polifenóis obtidos por HPLC) também foram centrados na média. A seleção de amostras para os grupos calibração e validação foi feita pelo algoritmo *Kennard-Stone*. O número de variáveis latentes (VL) foi selecionado por meio da validação cruzada *leave one out*, de acordo com um baixo valor do erro da validação cruzada (Root Mean Square Error of Cross Validation - RMSECV). Os erros de calibração (*Root Mean Square Error of Calibration* - RMSEC) e de validação (*Root Mean Square Error of Prediction* - RMSEP) foram usados para avaliação do desempenho dos modelos.

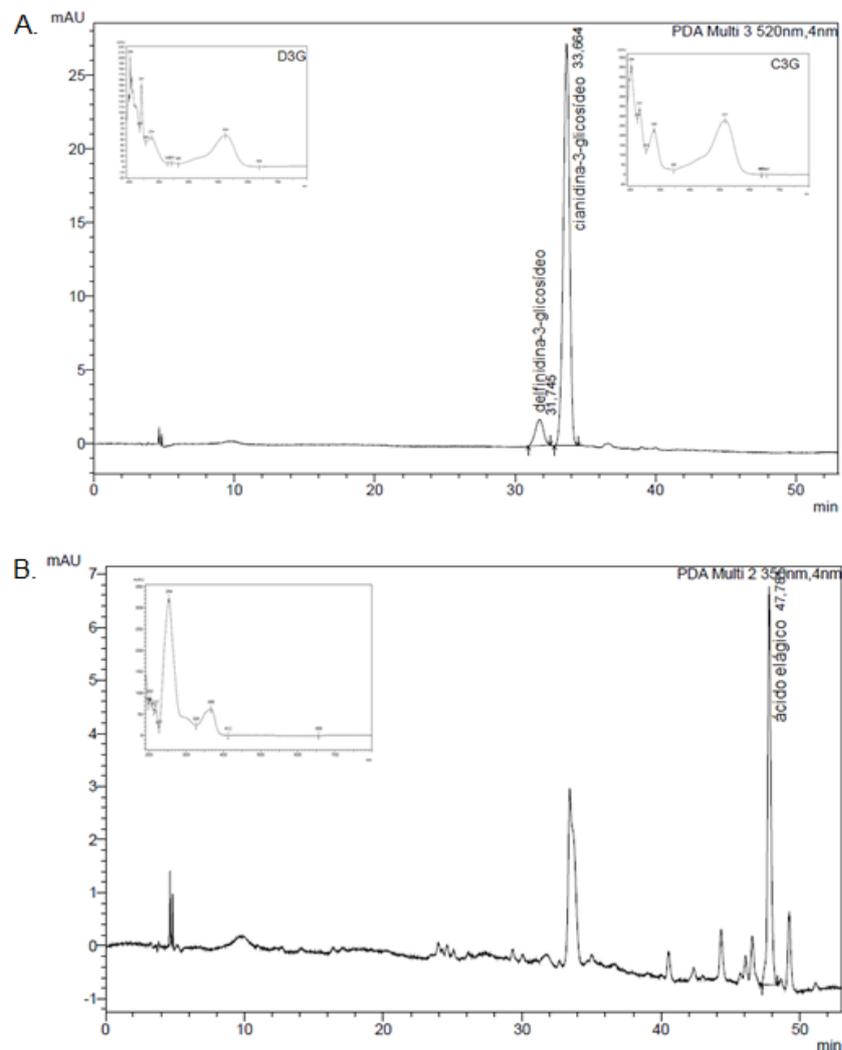
### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Avaliação de polifenóis por cromatografia**

Cianidina-3-glucosídeo e ácido elágico foram os principais polifenóis encontrados nas farinhas de cascas de jabuticaba (Figura II 1), como também registrado por Rodrigues *et al.* (2015) e Inada *et al.* (2020). Delfinidina-3-glucosídeo também foi identificada. Outros compostos foram separados durante a corrida cromatográfica, mas não puderam ser identificados pela ausência de padrões. Todavia, a separação e/ou identificação dos polifenóis ácido gálico, epicatequina, ácido ferúlico e quercetina, já identificados em cascas de

jabuticaba (NEVES *et al.*, 2021; QUATRIN *et al.*, 2019), não foram obtidas neste estudo, apesar de testados os padrões. Neves *et al.* (2021) e Quatrin *et al.* (2019) utilizaram cromatografia com espectrometria de massas, o que permite a identificação de maior número de compostos. Os autores também fizeram uma etapa de purificação dos extratos com cartuchos de fase reversa C-18, que contribui para melhor separação dos compostos.

**Figura II 1- Cromatogramas de polifenóis de FCJ**

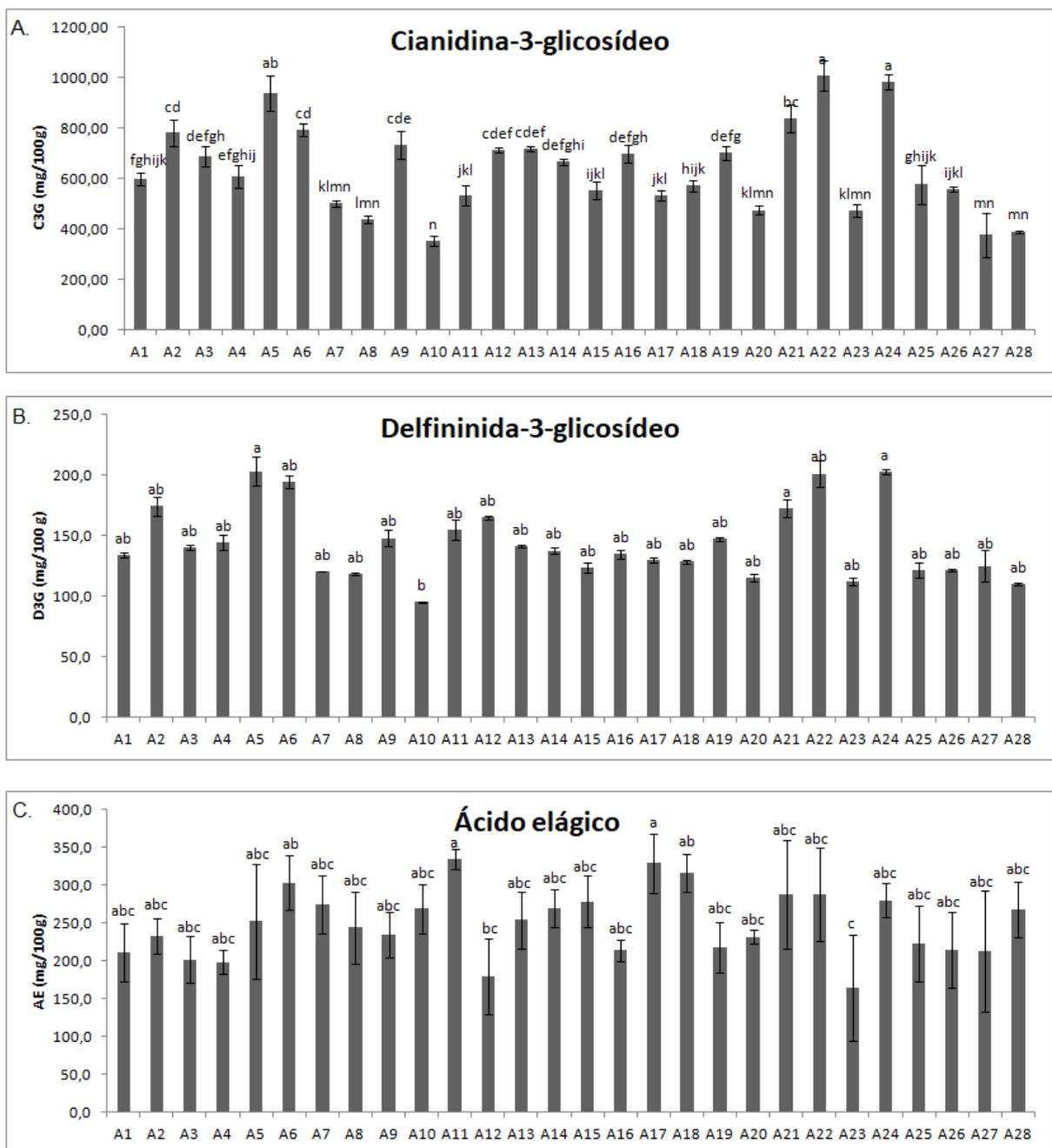


**Fonte: Dados da pesquisa.**

O conteúdo de C3G variou de 352,33 mg/100 g (A10) a 1008,73 mg/100 g de FCJ (A22) (Figura II 2A), uma variação de 186,30%. Esses valores foram fortemente correlacionados ( $r = 0,97$ ;  $p = 0,00$ ) com o conteúdo de antocianinas monoméricas totais avaliadas por UV-vis, conforme descrito no Capítulo 1. Sendo a C3G a principal antocianina presente em cascas de jabuticaba, essa correlação era esperada. No entanto, o conteúdo de

C3G apresentou correlação fraca a moderada ( $r = 0,45$ ;  $p = 0,02$ ) com o conteúdo de fenólicos totais extraíveis, medido pelo método de Folin-Ciocalteu (Capítulo 1). Mesmo Folin-Ciocalteu não sendo um método específico para compostos fenólicos, por ser a C3G o principal polifenol presente em cascas de jabuticaba, a baixa correlação sugere que o método Folin-Ciocalteu não é muito seletivo à C3G e pode subestimar a capacidade antioxidante de cascas de jabuticaba.

**Figura II 2- Gráficos dos conteúdos de C3G, D3G e ácido elágico nas FCJ**



Fonte: Dados da pesquisa.

Os conteúdos de C3G encontrados nas FCJ foram inferiores ao relatado por Quatrin *et al.* (2019) em pós de cascas de jaboticaba das espécies *P. jaboticaba* (1039,1 mg/100 g) e *P. trunciflora* (1632 mg/100 g); e também ao descrito por Plaza *et al.* (2016) em cascas de *P. jaboticaba* (2866 mg/100 g de amostra em peso seco). Mas, foram superiores ao encontrado por Alezandro, *et al.* (2013) em *P. jaboticaba* (123 mg/100 g de amostra em peso seco).

Diferentes benefícios da C3G à saúde, observados em pesquisas experimentais, estão descritos na literatura. Entre esses, Qi *et al.* (2020) registraram que a suplementação de C3G de arroz preto preveniu alterações patológicas renais em ratos com nefropatia diabética, tendo inibido a fibrose renal e a esclerose glomerular pela redução da glicemia, melhora da resistência à insulina e inibição do estresse oxidativo renal e de citocinas inflamatórias. Efeito hepatoprotetor também foi relatado pelo uso de C3G no dano hepático induzido pelo estresse oxidativo em camundongos (YU *et al.*, 2020). Zhao *et al.* (2020) observaram que C3G extraída de madressilva azul foi capaz de atenuar as respostas inflamatórias pulmonares induzidas por sílica em camundongos. Portanto, sendo as FCJ boas fontes de C3G, ela pode ser utilizada como um alimento com potenciais efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios.

A antocianina D3G também identificada nas FCJ, porém em menor expressão que a C3G, conforme pode ser observado no cromatograma da Figura II 1A, tendo seu conteúdo, estimado pela curva de C3G, variou de 94,99 mg/100 g (A10) a 203,36 mg/100 g de FCJ (A5) (Figura II 2B), uma variação de 114,08%. Porém, não foi encontrada diferença estatística entre a maioria das amostras. Apenas as amostras A5, A24 e A21 foram estatisticamente diferentes de A10.

D3G apresentou correlação muito forte com as antocianinas monoméricas totais ( $r = 0,91$ ;  $p = 0,00$ ) e com a C3G ( $r = 0,92$ ;  $p = 0,00$ ). Sendo os valores encontrados neste estudo semelhantes ao reportado no estudo de Quatrin *et al.* (2019) com cascas de jaboticaba em pó (108,1 e 176 mg/100g); e inferiores ao encontrado por Plaza *et al.* (2016) (356,3 mg/100g) no mesmo tipo de amostra. Com menos pesquisas que a C3G, a D3G foi descrita por Viegas *et al.* (2019) como um agente nutricional promissor contra o câncer de mama, tendo impedido a progressão do tumor via angiogênese; e evidenciando seletividade em relação às células cancerosas, o que é desejável.

As antocianinas são conhecidas corantes naturais (HE & GIUSTI, 2010). Seus conteúdos obtidos por cromatografia se correlacionaram negativamente e moderadamente com os parâmetros de cor luminosidade ( $L^*$ ) e ângulo Hue ( $h^*$ ): C3G e  $L^*$  ( $r = -0,65$ ;  $p =$

0,00); C3G e  $h^*$  ( $r = -0,68$ ;  $p = 0,00$ ); D3G e  $L^*$  ( $r = -0,64$ ;  $p = 0,00$ ); D3G e  $h^*$  ( $r = -0,69$ ;  $p = 0,00$ ). Essas correlações eram esperadas, visto que o conteúdo de antocianinas monoméricas totais se correlacionou de forma semelhante com luminosidade ( $r = -0,70$ ;  $p = 0,00$ ) e ângulo *Hue* ( $r = -0,65$ ;  $p = 0,00$ ), conforme Capítulo 1. Isso indica a tendência de que quanto mais escura e próxima da tonalidade vermelho púrpura forem as FCJ, mais C3G e D3G serão encontradas. O que está de acordo com a cor característica de cianidinas (magenta) e delphinidinas (púrpura) (HE & GIUSTI, 2010). As correlações encontradas indicam que C3G e D3G influenciam significativamente na coloração (luminosidade e tonalidade) das FCJ, mas não são os únicos compostos a exercer essa influência. As antocianinas não apresentaram correlação com os dados de cromaticidade ( $C^*$ ): C3G ( $r = -0,05$ ;  $p = 0,81$ ) e D3G ( $r = -0,08$ ;  $p = 0,68$ ), o que indica que não interferem no nível de saturação das cores.

O conteúdo de ácido elágico variou de 163,65 mg/100 g (A23) a 334,69 mg/100 g de FCJ (A11) (Figura II 2C), uma variação de 104,52%. Entretanto, assim como ocorreu para D3G, o conteúdo da maioria das amostras não foi estatisticamente diferente. As amostras A17 e A11 apresentaram diferença estatística para A23, que também foi estatisticamente diferente de A18 e A6.

Uma correlação moderada a forte ( $r = 0,69$ ;  $p = 0,00$ ) foi observada entre esses dados e os resultados de fenólicos totais extraíveis, avaliados pelo método Folin-Ciocalteu, como descrito no Capítulo 1. Neste trabalho, o ácido elágico foi o composto não antocianínico encontrado em maior quantidade nos extratos de FCJ. Considerando que o método Folin-Ciocalteu estima o conteúdo de todos os compostos fenólicos, 69% de correlação entre esses resultados é significativo e reforça a importância do ácido elágico para a capacidade antioxidante das FCJ. É importante, ainda, lembrar que o método Folin-Ciocalteu, apesar de amplamente usado por fornecer uma boa estimativa do conteúdo fenólico total da maioria dos vegetais, não é específico para os compostos fenólicos, já tendo sido demonstrada a reatividade de seu reagente para muitos outros compostos, como vitaminas, ácidos graxos insaturados, proteína, carboidratos, entre outros (EVERETTE *et al.*, 2014); o que pode influenciar na correlação dos dados de fenólicos totais extraíveis com os conteúdos de polifenóis avaliados por cromatografia.

Os teores de ácido elágico encontrados nas vinte e oito FCJ foram superiores ao reportado por Alejandro *et al.* (2013) (40 mg/100 g); Quatrin *et al.* (2019) (53,9 e 59,4 mg/100 g) e Plaza *et al.* (2016) (142,8 mg/100 g) em cascas de jabuticaba em base seca.

Assim como descrito para a C3G, o ácido elágico também demonstrou proteção contra a nefropatia diabética em ratos, tendo evitado danos renais, estresse oxidativo, inflamação e apoptose em animais com diabetes mellitus induzida (TAMIMI *et al.*, 2021). O ácido elágico também demonstrou atuar prevenindo arritmias e regulando o perfil lipídico alterado no infarto do miocárdio induzido em ratos (KANNAN & QUINE, 2013). Em um estudo clínico, foi observado que a suplementação de ácido elágico mais graviola (*Annona muricata*) induziu a eliminação do vírus do papiloma humano de alto risco (HR-HPV) em mulheres afetadas por lesão intraepitelial escamosa baixa relacionada ao HR-HPV (LE DONNE *et al.*, 2017). Portanto, considerando que as FCJ também são boas fontes de ácido elágico, seu consumo regular tem potencial para contribuir na prevenção e amenização de sintomas de diferentes doenças.

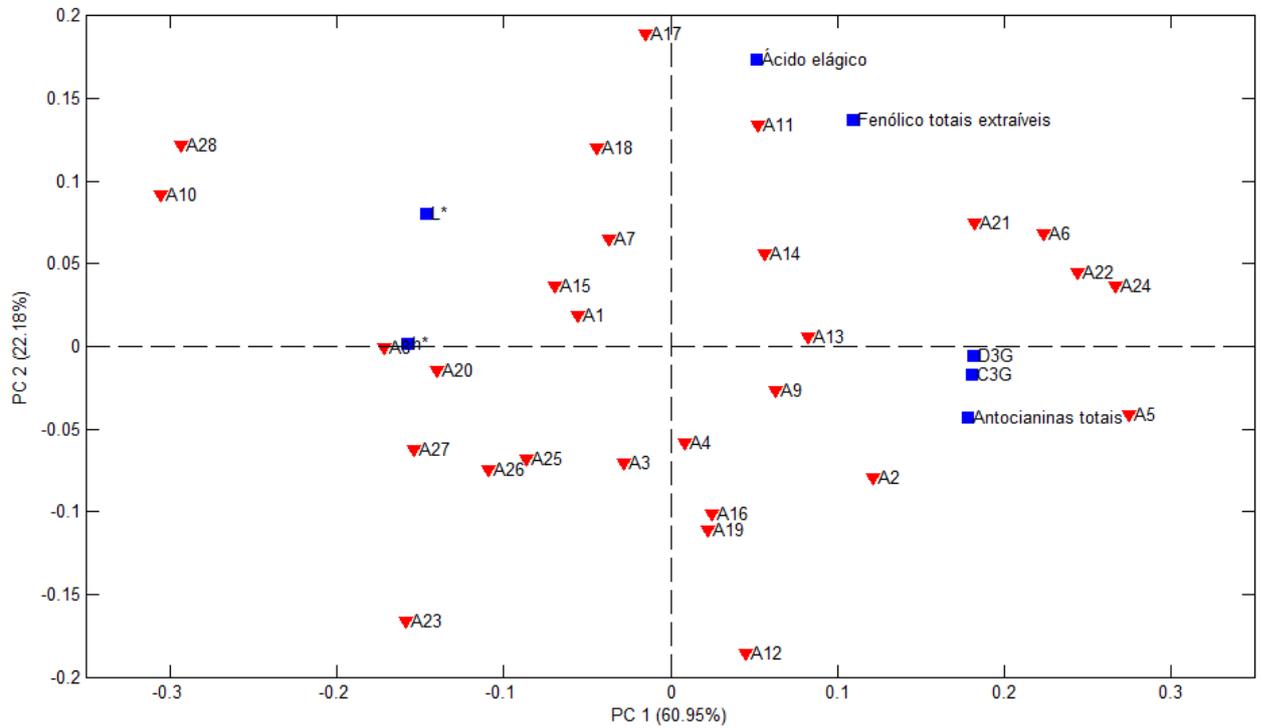
### 3.2 Distribuição das FCJ - PCA

A distribuição das amostras de FCJ, conforme os conteúdos dos polifenóis e os parâmetros de cor, que apresentaram correlação significativa, pode ser vista pelo gráfico *biplot* de PC1 x PC2 (Figura II 3). Juntas, as duas componentes principais da PCA desse conjunto de dados explicam 83,13% do modelo. A primeira componente principal (PC) explica 60,95% e divide as FCJ com mais conteúdo de polifenóis daquelas com menor teor de polifenóis e que são mais claras e menos avermelhadas. A PC2 explica 22,18% e separa as amostras com mais antocianinas daquelas com mais ácido elágico e fenólicos totais extraíveis avaliados por Folin-Ciocalteu. As relações encontradas entre C3G, D3G, antocianinas totais, luminosidade e cromaticidade; bem como de ácido elágico e fenólicos totais extraíveis também podem ser notadas no gráfico de PCA.

A origem geográfica das jabuticabas foi testada quanto à relação com os conteúdos de polifenóis e os parâmetros de cor luminosidade e cromaticidade. Diferentemente do conjunto das análises do Capítulo 1, nestas foi possível observar uma separação em PC2 (22,55%) das amostras de acordo com a mesorregião de origem das jabuticabas (Figura II 4). As amostras das regiões Central e Campos das Vertentes estão no lado positivo de PC2, relacionado a amostras com maior proporção ácido elágico/antocianinas e que são mais claras. Enquanto, 13 das 24 amostras da região Metropolitana estão no lado negativo de PC2, que separa as amostras com mais concentração de antocianinas e são mais escuras. A distribuição das FCJ

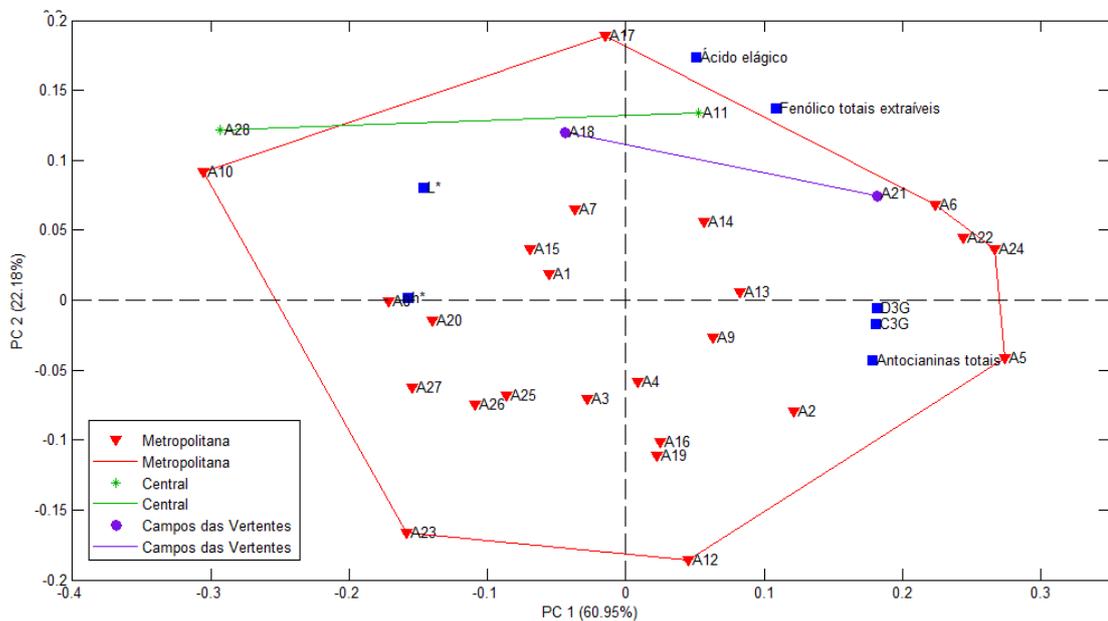
conforme as microrregiões pode ser vista na Figura II 5, em que podem ser observados alguns *clusters*, com sobreposição de microrregiões que fazem parte da mesorregião metropolitana.

**Figura II 3-Gráfico *biplot* PC1 vs. PC2 dos dados de polifenóis e parâmetros de cor**



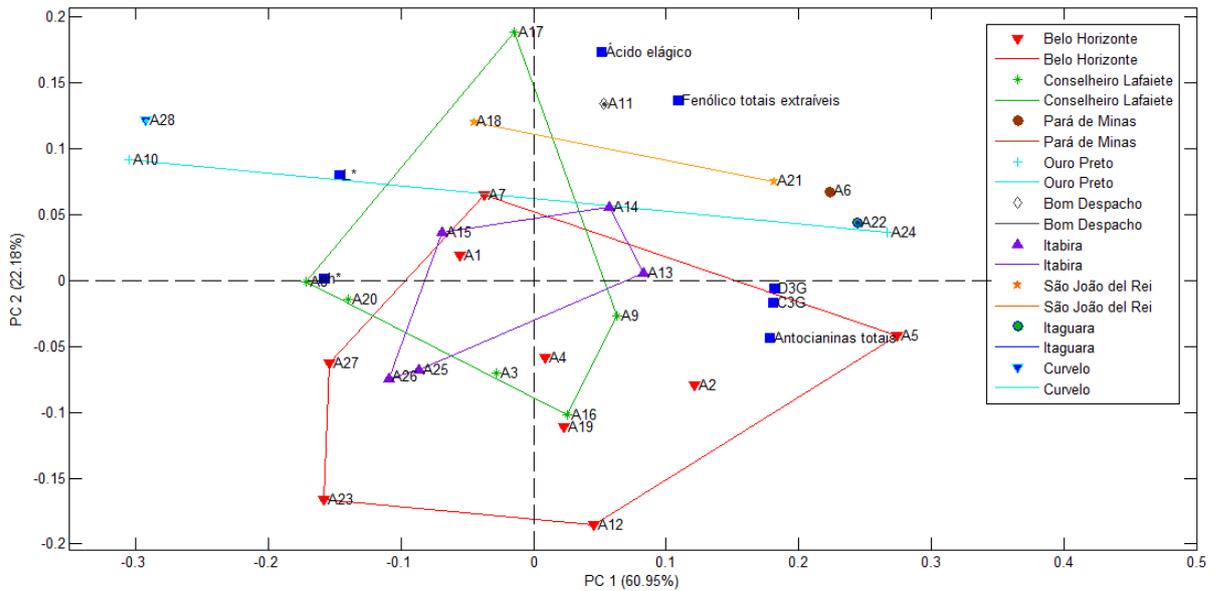
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura II 4- Gráfico *biplot* PC1 vs. PC2 mostrando a distribuição por mesorregião de origem das jabuticabas**



Fonte: Dados da pesquisa.

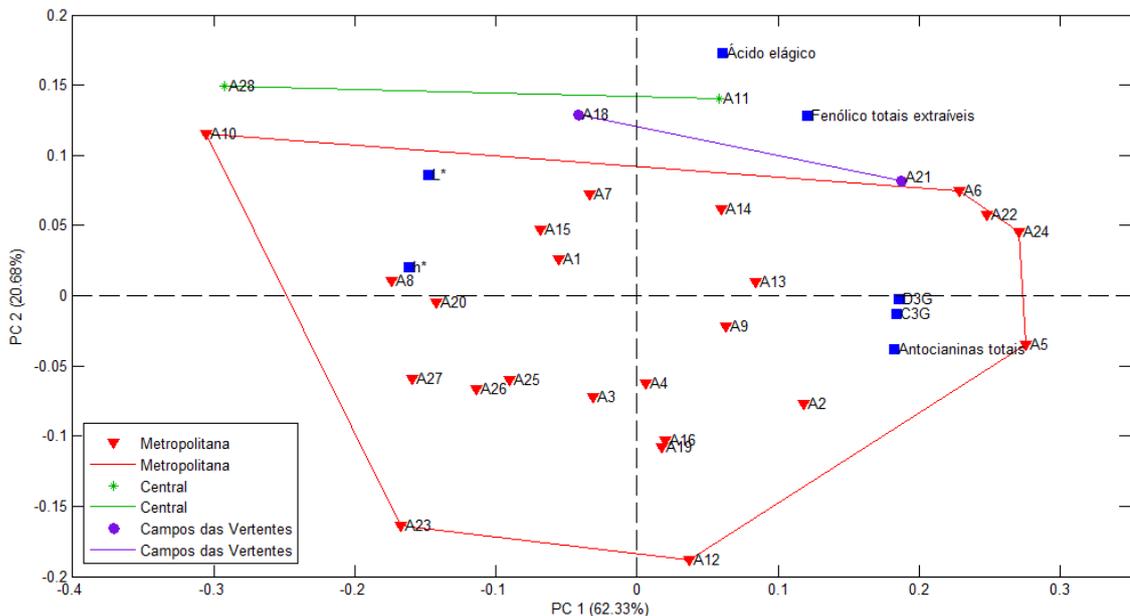
**Figura II 5- Gráfico *biplot* PC1 vs. PC2 mostrando a distribuição por microrregião de origem das jabuticabas**



Fonte: Dados da pesquisa.

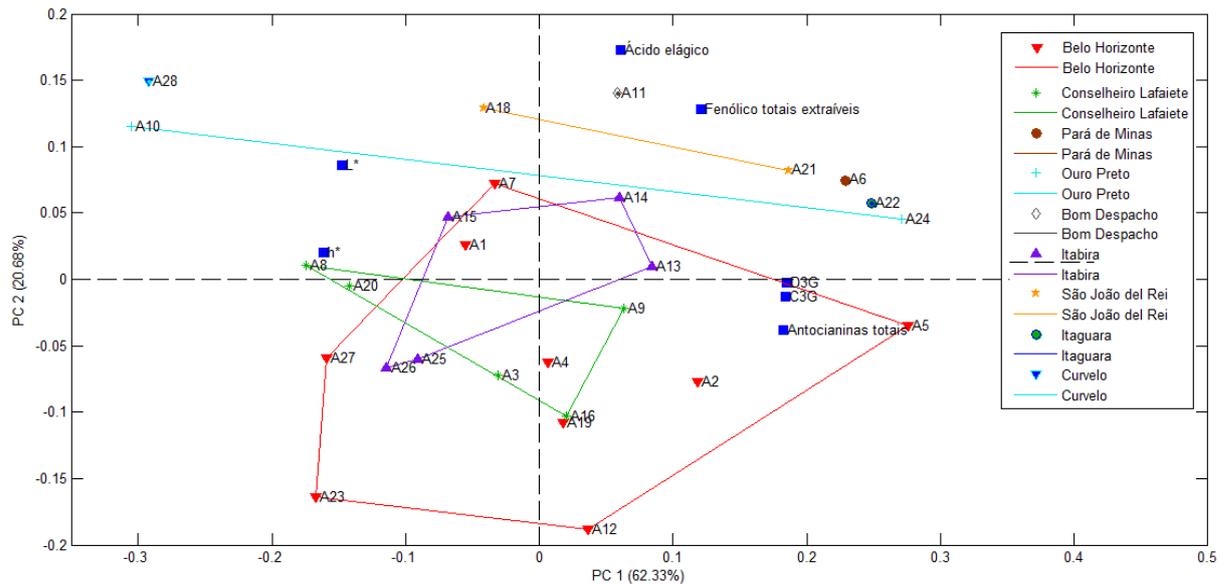
Nota-se pelas Figuras II 4 e II 5, que a farinha A17, feita de jabuticabas provenientes do município de Desterro de Entre Rios diferencia-se mais entre as amostras de sua região. Retirando essa amostra do conjunto (Figuras II 5 e II 6), os clusters ficam mais evidentes (Figura II 7).

**Figura II 6- Gráfico *biplot* PC1 vs. PC2 mostrando a distribuição por mesorregião de origem das jabuticabas sem a amostra A17**



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura II 7- Gráfico *biplot* PC1 vs. PC2 mostrando a distribuição por microrregião de origem das jabuticabas sem a amostra A17**



Fonte: Dados da pesquisa.

Contudo, é importante destacar que a PC2 explica pouco mais de 20% do modelo, portanto a separação por regiões não é a principal. Mas é conhecido que a origem geográfica pode interferir na composição dos alimentos por condições diferentes de solo e estado atmosférico.

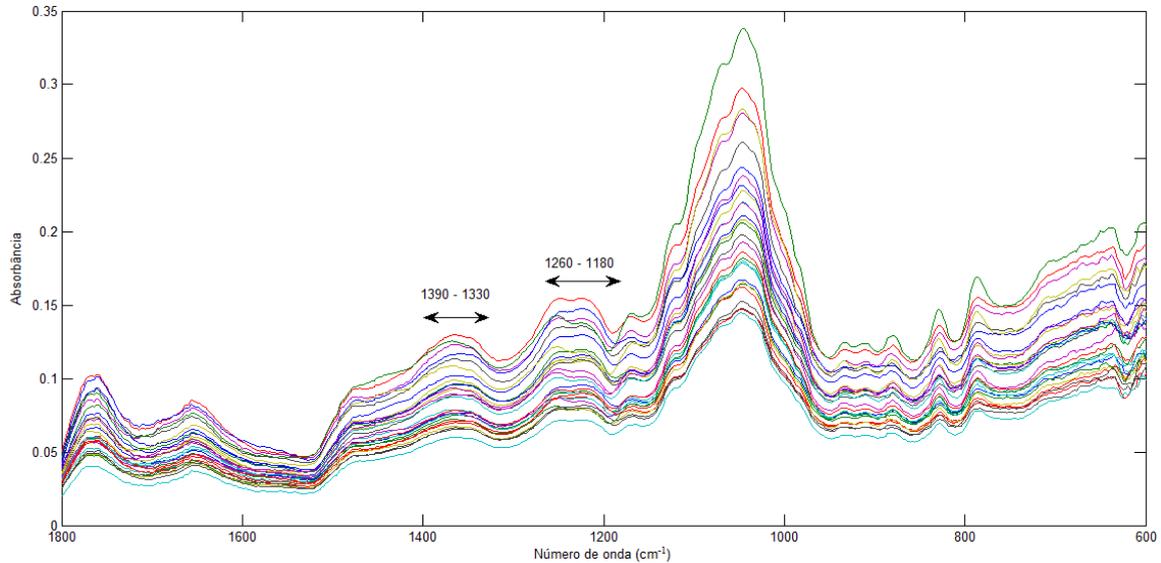
A investigação da separação das amostras pela origem geográfica neste trabalho tem a limitação do número reduzido de amostras. Mais amostras das mesorregiões Central e Campos das Vertentes contribuiriam na elucidação da diferença observada neste estudo.

### 3.3 Análise de FTIR

Espectros das FCJ foram obtidos em período próximo às análises de cromatografia. Para a construção dos modelos PLS foi utilizada uma faixa do espectro que contempla a região de impressão digital, que é única para cada amostra e, por essa razão, é usada para sua identificação e caracterização. Na Figura II 8 podem ser vistos os espectros das 28 amostras de FCJ na região de 1800 a 600  $\text{cm}^{-1}$ . Nessa região podem ser identificadas duas bandas encontradas em fenólicos: 1390-1330  $\text{cm}^{-1}$  e 1260-1180  $\text{cm}^{-1}$ , que resultam da interação entre a deformação angular O-H e o estiramento C-O (SILVERSTEIN, WEBSTER, &

KIEMLE, 2005). Por esse motivo, essa região é importante para a identificação e quantificação de compostos fenólicos.

**Figura II 8- Espectros FTIR de 1800 a 600 cm<sup>-1</sup> das FCJ**



**Fonte: Dados da pesquisa.**

### 3.4 Modelos quimiométricos (PLS)

Foram construídos 3 modelos PLS para a predição de C3G, D3G e ácido elágico. Foram selecionadas 21 amostras para o conjunto calibração e 7 amostras para validação. Os parâmetros referentes a faixa espectral e pré-tratamentos variou conforme melhor adequação do modelo. Para o modelo das antocianinas foi utilizada a faixa espectral de 1600-900 cm<sup>-1</sup> e para o ácido elágico, 1800-600 cm<sup>-1</sup>. Os espectros tiveram corrigida a linha de base por 1ª derivada (D3G) e 2ª derivada (C3G e ácido elágico), e também passaram pela transformação de padronização normal de sinal (SNV). Todos os dados foram centrados na média. Os parâmetros de calibração do modelo estão dispostos na Tabela II 1. Todos os modelos apresentaram a razão RMSEP/RMSEC menor que 3, indicando que não há sobreajuste.

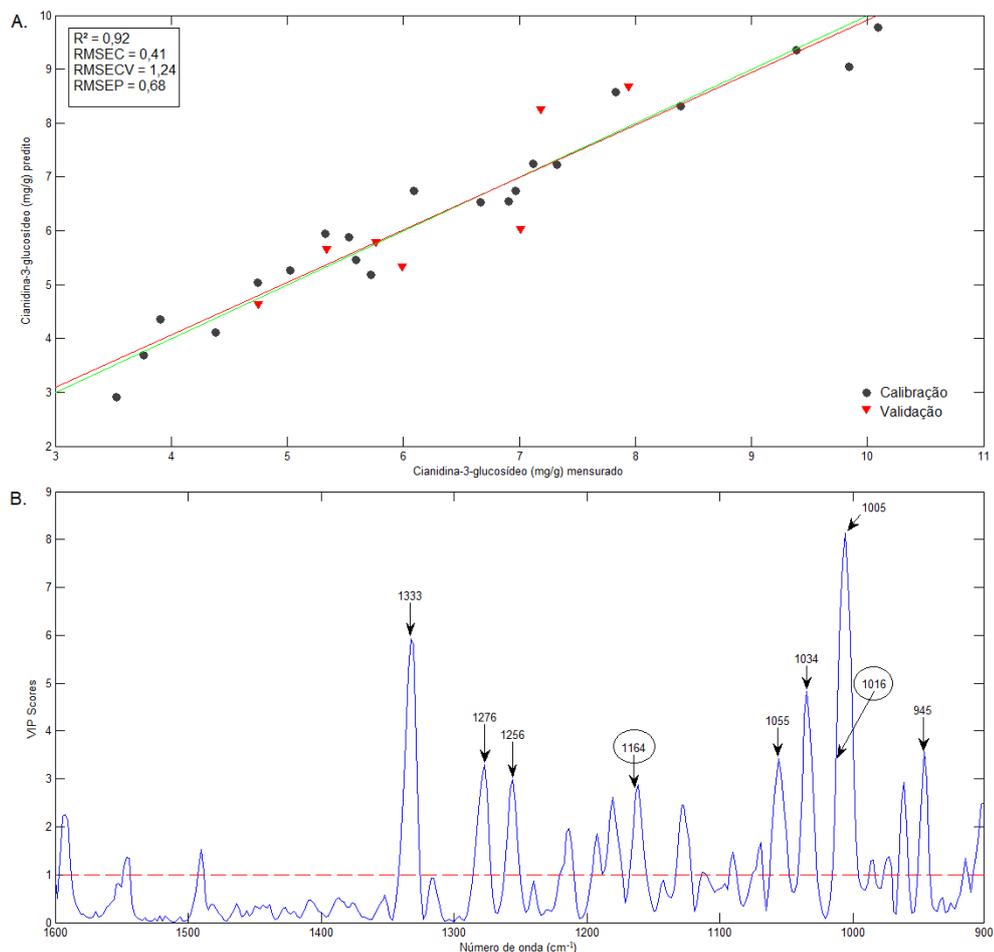
**Tabela II 1- Parâmetros de calibração dos modelos para predição de polifenóis nas FCJ**

<b>Polifenóis</b>	<b>VL</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>RMSEC</b>	<b>RMSECV</b>	<b>RMSEP</b>
C3G	4	0,92	0,41	1,24	0,68
D3G	5	0,87	0,08	0,25	0,16
Ácido elágico	4	0,83	0,12	0,44	0,31

O melhor modelo foi construído para a predição de C3G (Figura II 9A). Foram escolhidas 4 variáveis latentes, que juntas explicam 95,29% da variação em **Y** e 81,32% em **X**. O  $R^2$  foi 0,92. Os números de onda que mais influenciaram o modelo podem ser vistos no gráfico de *Vip Scores* (Figura II 9B) e contemplam números de onda identificados em espectro de C3G (Figura II 10, adaptada de Choong, *et al.*, 2019), como 1164 e 1016  $\text{cm}^{-1}$ . 1333  $\text{cm}^{-1}$  e 1256  $\text{cm}^{-1}$  estão entre os que mais influenciaram a predição de C3G e está dentro da faixa de característica de fenóis (SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

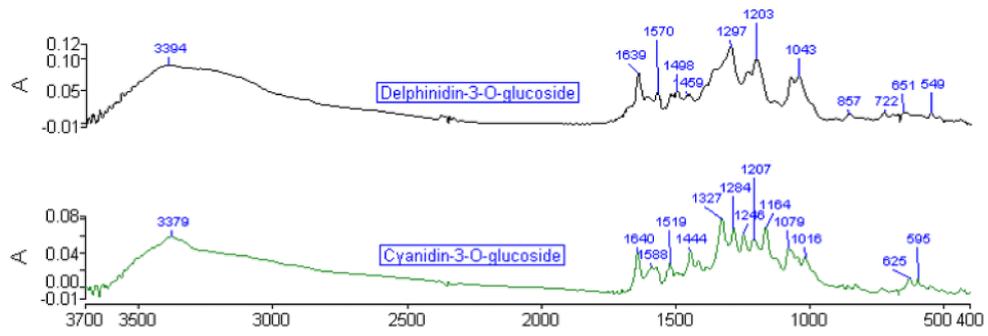
Para D3G foi construído um modelo (Figura II 11A) com 5 variáveis latentes, que juntas explicam 94,87% da variação em **Y** e 92,79% em **X**.  $R^2$  foi igual a 0,87. Os números de onda que mais influenciaram o modelo (Figura II 11B) são muito próximos daqueles do modelo da C3G (incluindo 1346  $\text{cm}^{-1}$ ). E contempla 1043  $\text{cm}^{-1}$ , identificado no espectro de D3G por Choong *et al.* (2019) (Figura II 10).

**Figura II 9- Gráficos dos valores preditos vs. mensurados e de VIP scores para C3G**



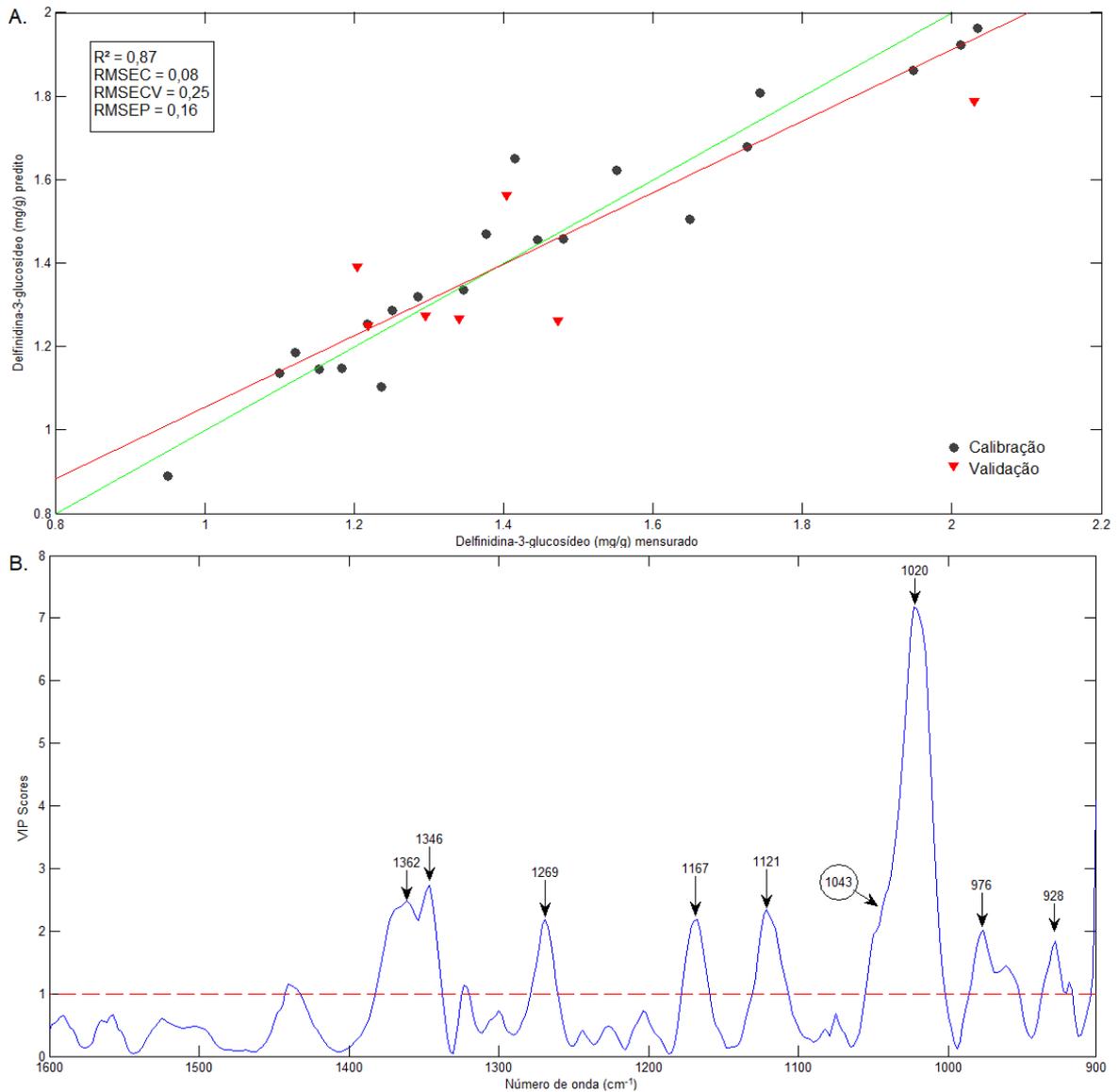
**Fonte: Dados da pesquisa.**

**Figura II 10- Espectros FTIR de antocianinas**



Fonte: Adaptado de Choong *et al.* (2019).

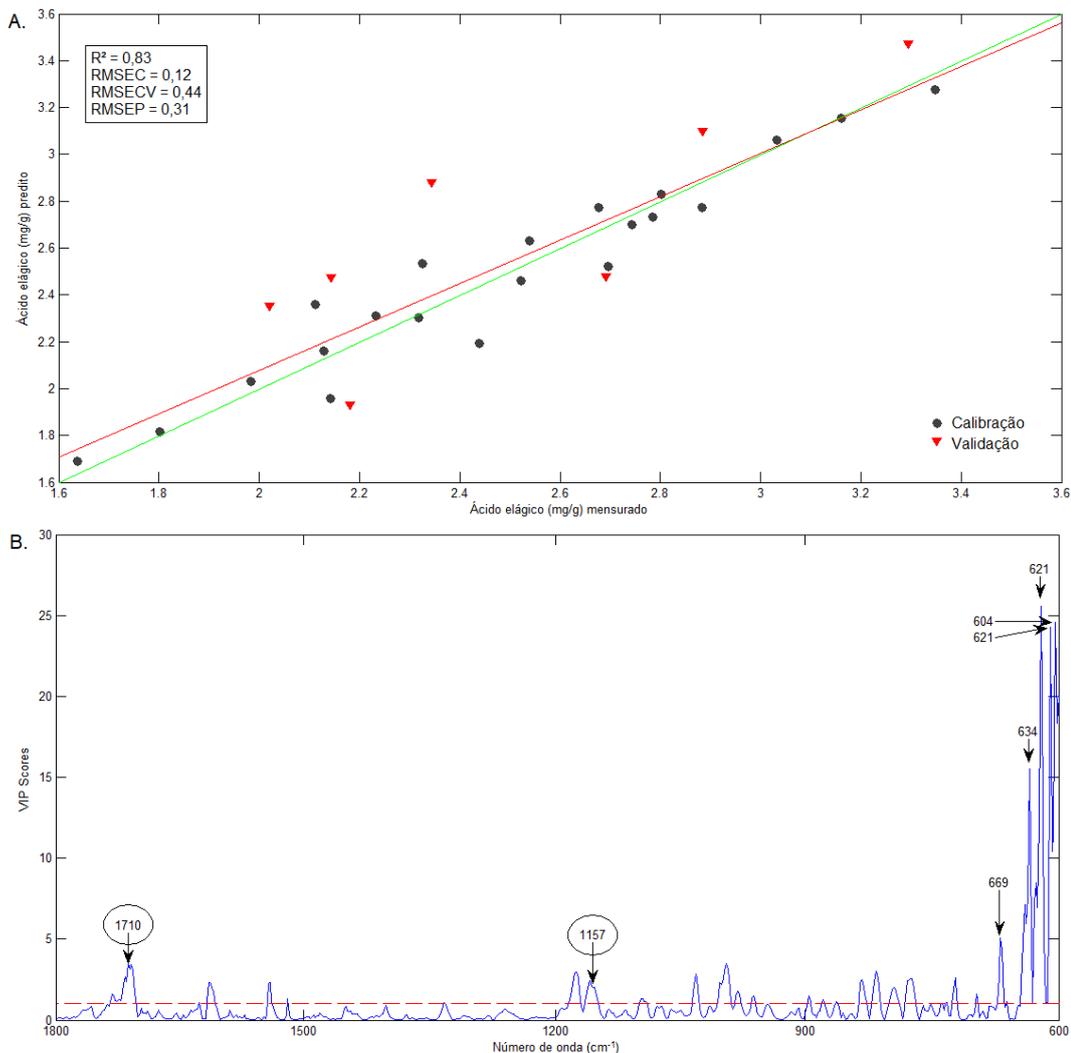
**Figura II 11- Gráficos dos valores preditos vs. mensurados e de VIP scores para D3G**



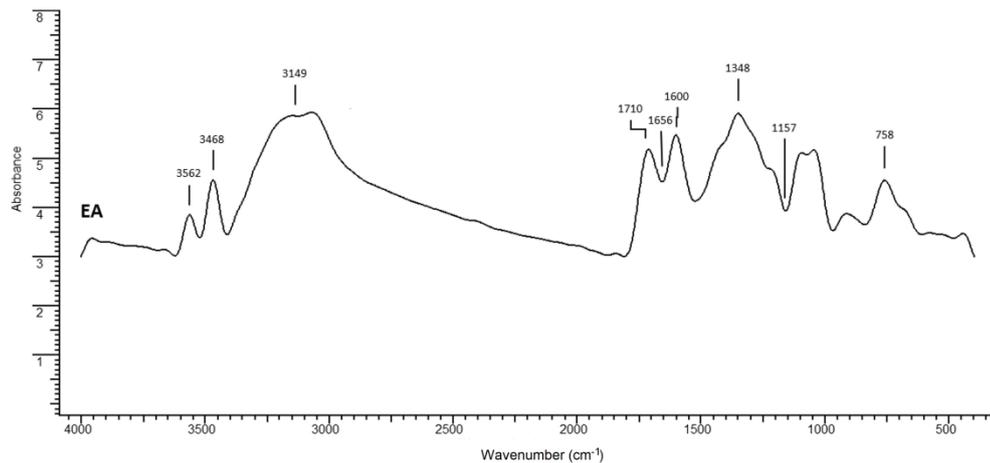
Fonte: Dados da pesquisa.

O modelo de predição do ácido elágico (Figura II 12A), foi construído com 4 variáveis latentes, que juntas explicam 77,14% da variação em **Y** e 92,70% da variação em **X**.  $R^2$  foi 0,83. Entre os números de onda que mais influenciaram o modelo (Figura II 12B), está 1710  $\text{cm}^{-1}$ , identificado no espectro de ácido elágico por Tavares *et al.* (2021) (Figura II 13, adaptação). No entanto, a maioria dos números de onda que mais influenciaram o modelo estão na faixa de 600-669  $\text{cm}^{-1}$ , cuja associação com ácido elágico não foi identificada, isso ajuda a explicar o menor desempenho desse modelo.

**Figura II 12- Gráficos dos valores preditos vs. mensurados e de VIP scores para AE**



**Fonte: Dados da pesquisa.**

**Figura II 13- Espectro FTIR do ácido elágico**

**Fonte: Adaptado de Tavares *et al.* (2021).**

Contudo, ainda que os modelos de D3G e ácido elágico tenham valores de  $R^2$  inferior a 0,9, eles ainda podem ser considerados satisfatórios, visto que as diferenças entre valores preditos e mensurados é muito pequena e pode não ser significativa para análises de rotina. Destaca-se que a análise cromatográfica demanda bastante tempo e consumo de reagentes tóxicos que geram resíduos. Ao passo que a espectroscopia FTIR não gera resíduos, não destrói a amostra e demanda menor tempo de análise.

#### 4 CONCLUSÕES

Três polifenóis com atividades benéficas à saúde foram identificados nas FCJ. C3G foi o polifenol quantificado em maior quantidade, seguido por ácido elágico e D3G para a maioria das amostras. Os conteúdos desses três compostos apresentaram variações acima de 100% entre as 28 farinhas. Contudo, a principal diferença estatística entre as amostras foi para o conteúdo de C3G. Os teores de C3G e D3G apresentaram correlações muito fortes entre eles e com o conteúdo de antocianinas monoméricas totais, além de correlações inversas moderadas com os parâmetros de cor luminosidade e ângulo *Hue*. Ácido elágico apresentou correlação moderada a forte com o conteúdo de fenólicos totais extraíveis medido por Folin-Ciocalteu. Pela análise de PCA identificou-se que as FCJ se diferenciam, principalmente, entre aquelas com mais e menos polifenóis. Uma diferenciação secundária (22,55%) foi

observada para amostras com mais ácido elágico e mais claras daquelas mais escuras e com mais antocianinas. A PC2 parece também separar farinhas produzidas a partir de jabuticabas oriundas da região Metropolitana daquelas feitas a partir de frutas das demais mesorregiões. O modelo de regressão PLS, baseado em dados de espectroscopia FTIR, foram capazes de fornecer previsões satisfatórias dos conteúdos de C3G (principalmente), D3G e ácido elágico.

### **CAPÍTULO 3**

#### **FARINHA DE CASCA JABUTICABA (*Plinia* spp.) COMO FONTE DE PECTINA: CARACTERIZAÇÃO E EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

As cascas são o principal resíduo da jabuticaba e correspondem a cerca de 40% de sua massa, sendo fonte de antocianinas e fibras alimentares. O teor de fibra alimentar solúvel varia de aproximadamente 4,41 a 9,27 g/100g, como já demonstrado anteriormente (RESENDE; OLIVEIRA; FRANCA, 2020).

Entre as fibras alimentares, destaca-se a pectina, utilizada pela indústria de alimentos como gelificante, emulsificante, espessante, intensificador de viscosidade, modificador de textura e estabilizante. As pectinas são polissacarídeos presentes nas paredes celulares dos tecidos vegetais, em três formas poliméricas: (i) homogalacturonana (HG), um polímero linear de ácido galacturônico ligado a  $\alpha$ - (1-4) (GalA); (ii) ramnogalacturonana I (RG-I), um dissacarídeo de repetição de  $\alpha$ -1,2-ligado-L-ramnose- $\alpha$ -1,4-D-GalA com várias cadeias laterais do L-ramnosil que pode ser substituído com açúcar neutro e ácido glucurônico; e (iii) ramnogalacturonana II (RG-II), uma estrutura de HG com cadeias laterais de diferentes monossacarídeos anexados. Os resíduos de ácido galacturônico em HG podem ser metilesterificados e/ou O-acetil esterificados. Pectinas com alto teor de metoxila (high methoxyl pectins - HMP) apresentam grau de metilesterificação (degree of methyl-esterification - DM) maior ou igual a 50% e formam géis em altas concentrações de açúcar (55-75%) e sistemas ácidos (pH 2,50-3,50); e pectinas com baixo teor de metoxila (low methoxyl pectins - LMP) (DM<50%) formam géis na presença de íons divalentes em uma ampla faixa de pH (2–6) (CHAN *et al.*, 2017; DRANCA; OROIAN, 2018).

A pectina comercial é obtida principalmente de cascas de frutas cítricas e bagaço de maçã, mas fontes não convencionais também têm sido investigadas devido ao interesse em pectinas com diferentes propriedades funcionais. Diferentes resíduos do processamento de frutas e vegetais têm se mostrado fontes potenciais de pectina, incluindo bagaço de tomate, cenoura, azeitona e uva; cascas de manga, maracujá, banana e pequi (DRANCA; OROIAN, 2018; LEÃO *et al.*, 2018; MÜLLER-MAATSCH *et al.*, 2016). As geleias e bebidas de jabuticaba têm efeito espessante natural, atribuído à composição polissacarídica de suas cascas. Essa observação indica a casca da jabuticaba como potencial fonte de pectina. Benvenuti *et al.* (2020) investigaram esse potencial extraindo a pectina do bagaço de jabuticaba, subproduto industrial, e obtiveram rendimentos em torno de 4% a 27,3%, dependendo do solvente usado. Nascimento *et al.* (2020) também avaliaram o potencial da

fruta brasileira, extraíndo a pectina da farinha comercial de jaboticaba e obteve um produto com 95% de ácido galacturônico, que apresentou efeitos anticâncer de cólon. No entanto, em ambos os estudos, não foi investigada a influência de diferentes tecnologias nem do uso de baixas temperaturas (em torno de 40°C) na extração da pectina.

O rendimento, a estrutura e, por consequência, as propriedades físico-químicas das pectinas dependem da fonte e das condições de extração (CHAN *et al.*, 2017; DRANCA; OROIAN, 2018; MARIC *et al.*, 2018; MÜLLER-MAATSCH *et al.*, 2016). A combinação de soluções aquosas de baixo pH (preparadas com ácidos minerais) e altas temperaturas é geralmente usada para a extração de pectina. No entanto, o uso de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, tem se intensificado por serem mais interessantes do ponto de vista ambiental e de saúde. Eles também fornecem rendimentos mais elevados, devido à menor capacidade de hidrólise, que resulta em cadeias de pectina menos degradadas e mais longas (DRANCA; OROIAN, 2018; MARIC *et al.*, 2018). O uso de temperaturas mais baixas (25 e 40 °C) também foi considerada e, embora tenha apresentado menores rendimentos e menor proporção de ácido galacturônico, foram produzidas pectinas mais intactas, ou seja, com a estrutura menos modificada em relação a como ela é na parede vegetal, e que apresentaram maior viscosidade aparente e melhores atividades biológicas relacionadas à galectina-3, uma proteína associada ao câncer (CHEN *et al.*, 2021).

A extração convencional da pectina está associada a elevado consumo de tempo, de energia e de solventes, além de ser termicamente insegura. Abordagens de extração inovadoras como ultrassom (US), micro-ondas (*microwaves* - MW) e enzimas foram investigadas para superar as limitações mencionadas, a fim de aumentar o rendimento e melhorar as características da pectina (LIEW *et al.*, 2016; MARIC *et al.*, 2018). Extração assistida por ultrassom (*ultrasound assisted extraction* - UAE) é uma técnica não térmica, baseada em sonicação para propagar ondas sonoras que criam cavitações no líquido. O colapso das bolhas de cavitação perto do material vegetal causa um aumento na pressão e na temperatura, o que resulta no rompimento das células. Extração assistida por micro-ondas (*microwave assisted extraction* - MAE) é uma técnica que envolve curto tempo de extração, baseado no aquecimento interno por micro-ondas, com consequente aumento da pressão e rompimento do tecido e liberação de compostos na solução. A extração assistida por enzima (*enzyme assisted extraction* - EAE) é um método baseado na desintegração da parede celular por enzimas específicas, como celulasas e hemicelulasas, que aumenta o rendimento e a qualidade das pectinas (KUMAR *et al.*, 2020; LIEW *et al.*, 2016; MARIC *et al.*, 2018).

Os métodos descritos anteriormente também podem ser combinados para melhorar a eficiência e a qualidade. Liew *et al.* (2016) utilizaram a extração sequencial assistida por ultrassom e micro-ondas (*ultrasound-microwave assisted extraction* - UMAE) para a obtenção de pectinas de cascas de pomelo. A combinação de técnicas resultou em aumentos no rendimento e no conteúdo de ácido galacturônico, bem como melhorias nas características morfológicas em comparação com as técnicas individuais. Extração assistida por ultrassom-enzima (*ultrasound-enzyme assisted extraction* - UEAE) é uma técnica combinada, que também proporcionou aumento no rendimento e maior módulo de elasticidade para frações enriquecidas com pectina obtidas de cenouras descartadas (ENCALADA *et al.*, 2019). Métodos combinando micro-ondas e enzimas não foram encontrados na literatura. Como a extração por enzimas é realizada em baixas temperaturas, é possível utilizar os dois métodos simultaneamente, explorando assim seu sinergismo. Além disso, ambos os métodos podem ser usados sequencialmente com ultrassom.

Os objetivos deste trabalho foram extrair e caracterizar pectinas funcionais mais intactas da farinha de casca de jabuticaba, comparando diferentes métodos de extração. UMAE foi combinado com EAE, que chamamos de extração assistida por ultrassom-microondas-enzima (*ultrasound-microwave-enzyme assisted extraction* - UMEAE), uma técnica apresentada pela primeira vez neste estudo.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

A farinha de casca de jabuticaba identificada como A3 no Capítulo 1 foi selecionada para este estudo por estar entre as amostras disponíveis em maior quantidade e com maior conteúdo de fibra alimentar solúvel (6,50 g/100g).

Padrões de monossacarídeos e antioxidantes cianidina-3-glicosídeo e ácido elágico; solução de enzimas celulase de *Trichoderma reesei* e hemicelulase de *Aspegillus niger*; e os produtos químicos para análise cromatográfica como ácido trifluoroacético, borohidreto de sódio, dimetilsulfóxido, 1-metilimidazol, diclorometano, etanol, metanol e ácido acético foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os outros produtos químicos utilizados e descritos nos

métodos foram de grau analítico e adquiridos das empresas Neon e Synth. Pectina cítrica comercial (PCC) foi obtida da marca Dinâmica.

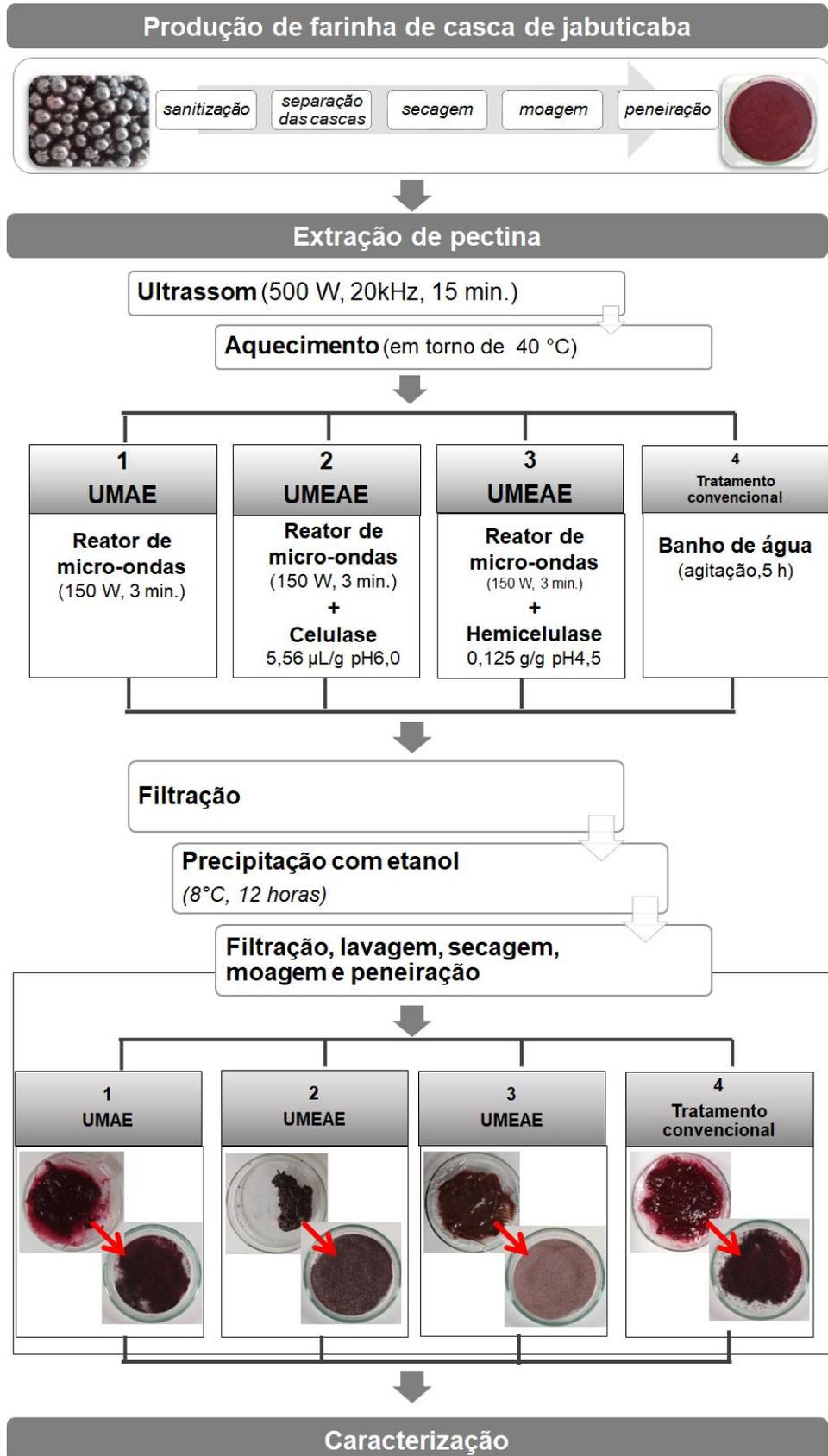
## 2.2 Métodos

Foi desenvolvido um procedimento para avaliação de quatro métodos de extração de pectina (tratamentos), baseado nos trabalhos de Chen *et al.*, (2021), Dominiak *et al.* (2014), Encalada *et al.* (2019), Leão *et al.* (2018) e Liew *et al.* (2016). As principais etapas do procedimento de extração das pectinas estão resumidas em um fluxograma (Figura III 1).

Com base na proporção descrita por Liew *et al.* (2016) entre massa de amostra e volume de solução, 5 g de farinha de casca de jaboticaba foram misturados com 145 mL de uma solução. Foram preparadas 3 misturas para cada tratamento. As misturas foram sonicadas em um reator ultrassônico (EcoSonics, 500 W, 20 kHz) por 15 minutos e em seguida foram aquecidas a cerca de 40 °C, como feito por CHEN *et al.* (2021). Em seguida, as misturas foram filtradas e as pectinas precipitadas com 300 mL de etanol 95% (v/v) (por 12 horas a 8 °C), filtradas através de uma peneira de aço inoxidável (250 µm), lavadas com etanol 70% (v/v), secas (40 °C, 12 horas), moídas e peneiradas (425 µm), conforme descrito por Leão *et al.* (2018). Os resíduos das extrações de pectina também foram secos nas mesmas condições para análise de monossacarídeos, como feito por Chen *et al.* (2021).

Para o tratamento 1 (UMAЕ) foi utilizada solução de ácido cítrico (pH 1,8) e aquecimento em um reator de micro-ondas (Model Start Synthesis, Synth; 150 W) por 3 minutos, de acordo com Leão *et al.* (2018). Para o tratamento 2 (UMEAE) foi utilizada solução de tampão citrato (pH 6,0) mais 280 µL de solução de celulase, de acordo com a proporção usada por Dominiak *et al.* (2014), e aquecimento por micro-ondas como já descrito. Para o tratamento 3 (UMEAE) também foi utilizada a solução de tampão citrato (pH 6,0) mais 0,625 g de hemicelulase, conforme quantidade usada por Encalada *et al.* (2019), e o aquecimento por micro-ondas nas mesmas condições anteriores. Para o tratamento 4 (tratamento convencional) foi utilizada solução de ácido cítrico (pH 1,8) e aquecimento em banho de água com agitação constante por 5 horas, conforme Encalada *et al.* (2019).

Figura III 1 – Fluxograma de produção das pectinas de farinha de casca de jabuticaba



Fonte: A autora.

Os rendimentos das extrações de pectina foram calculados conforme a Equação 1:

$$\text{Rendimento (\%)} = m_1/m_2 \times 100 \quad (1)$$

em que :  $m_1$  é a massa da pectina seca (g) e  $m_2$  é a massa da farinha da casca de jabuticaba (g).

## 2.3 Caracterização das pectinas

### 2.3.1 Análise de FTIR e DM

As análises de FTIR foram realizadas nas pectinas conforme descrito nos Capítulos 1 e 2, em espectrofotômetro FTIR com acessório ATR, em atmosfera seca, a 20°C. Os dados espectrais foram submetidos à correção de linha de base pelo *software* IRsolution Ver.1.20 (Shimadzu Corporation, Japão). O DM foi estimado por FTIR, usando as bandas de 1630 e 1740  $\text{cm}^{-1}$  e a Equação 2, de acordo com Kyomugasho *et al.* (2015) e Liew *et al.* (2016):

$$\text{DM (\%)} = A_{1740}/(A_{1740} + A_{1630}) \times 100 \quad (2)$$

Em que:  $A_{1740}$  corresponde à absorvância em 1740  $\text{cm}^{-1}$  (grupos carboxila metilesterificados); e  $A_{1630}$  corresponde à absorvância em 1630  $\text{cm}^{-1}$  (grupos carboxila não metilesterificados).

### 2.3.2 Determinação de monossacarídeos neutros

A composição de monossacarídeos neutros foi avaliada nas pectinas e em seus resíduos de extração pelo método de derivatização do acetato de alditol por cromatografia gasosa, conforme descrito em Resende, Franca e Oliveira (2019). Resumidamente, os açúcares neutros presentes nas amostras foram hidrolisados com ácido trifluoroacético, reduzidos com boro-hidreto de sódio em dimetilsulfóxido e derivatizados com anidrido acético, na presença de 1-metilimidazol, aos seus acetatos de alditol. Diclorometano foi usado para extrair os acetatos de alditol, cuja separação foi realizada em cromatógrafo a gás Varian 3900 com detector de ionização de chama, usando um coluna capilar BPX-70 (30 m  $\times$  0,32 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ ) e nitrogênio como gás de arraste (1,5 mL/min). A temperaturas do injetor foi de 230 °C e do detector, 280 °C. A duração da corrida foi de 38 minutos. Os açúcares neutros

foram identificados por comparação com padrões de açúcares da marca Sigma-Aldrich. Alose foi utilizado como padrão interno.

### 2.3.3 Conteúdo de compostos fenólicos

Polifenóis foram extraídos e quantificados tal como descrito no Capítulo 2, baseado nos métodos descritos por Barros *et al.* (2019) e Plaza *et al.* (2016), com modificações. Resumidamente, a extração foi realizada em banho ultrassônico, a cerca de 30 °C, por uma hora, com etanol 50% (v/v), em pH  $3,0 \pm 0,1$  acertado com ácido acético. A identificação e quantificação dos polifenóis foi feita por HPLC, usando como fases móveis ácido fórmico aquoso 0,5% (v/v) (A) e 0,5% (v / v) de ácido fórmico em metanol (B). A corrida durou 53 minutos e os compostos foram identificados por comparação com os tempos de retenção e o espectro de padrões autênticos (cianidina-3-glucosídeo e ácido elágico), que foram usados para a construção de curvas de calibração para a quantificação dos compostos, expressos em mg/100 g.

### 2.3.4 Propriedades tecnológicas

Os parâmetros de cor luminosidade ( $L^*$ ), ângulo *Hue* ( $h^\circ$ ) e cromaticidade ( $C^*$ ) das pectinas obtidas foram analisados tal como descrito no Capítulo 1. Resumidamente, valores de  $L^*$  e das coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  foram obtidos por análise das amostras em colorímetro. Ângulo *Hue* ( $h^\circ$ ) e índice de cromaticidade ( $C^*$ ) foram calculados a partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$ .

As propriedades tecnológicas índice de absorção de água (IAA) e de óleo (IAO); volume de intumescimento e índice de solubilidade em água (ISA) foram realizadas nas pectinas conforme descrito em Resende, Franca e Oliveira (2019), com uma ligeira modificação na massa utilizada nos testes de IAA e IAO. Em suma, 0,1 g de amostra das pectinas foi misturado com 2 mL de água (para IAA) ou óleo (para IAO) e a mistura foi submetida a agitação e posterior centrifugação para separação da parte sólida, cuja massa foi comparada (em percentual) com a inicial. O sobrenadante com água foi desidratado e o ISA foi determinado, percentualmente, como a proporção de massa do material desidratado em

relação à massa inicial. O VI foi definido como o volume final (mL) ocupado pelas pectinas (150 mg) em provetas de 10 mL, após agitação com água e decantação.

As propriedades emulsificantes foram avaliadas de acordo com o procedimento descrito por Xu *et al.* (2020) com algumas modificações. Para a atividade emulsificante (AE), 5 mL de solução de pectina 1,0% (m/v) foram homogeneizadas com 5 mL de óleo de soja em um tubo Falcon (15 mL), utilizando um reator ultrassônico (EcoSonics, 500 W, 20 kHz) por 1 minuto. Na sequência, a mistura foi centrifugada a 3500 rpm durante 10 min. A AE foi calculada pela Equação 3:

$$AE (\%) = \text{volume da camada de emulsão} / \text{volume total} \times 100 \quad (3)$$

A estabilidade da emulsão (EE) foi analisada por aquecimento da emulsão preparada para avaliação da AE, a 80 °C, em banho-maria, por 30 minutos, seguido por resfriamento à temperatura ambiente e centrifugação a 3500 rpm por 10 minutos. A EE foi calculada pela Equação 4:

$$EE (\%) = \text{volume restante da camada de emulsão} / \text{volume total} \times 100 \quad (4)$$

## 2.4 Análises estatísticas

À exceção dos monossacarídeos neutros, todos os outros experimentos foram realizados em triplicata. Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão e a normalidade foi verificada pelo método de Shapiro-Wilk. Diferenças significativas foram investigadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para luminosidade, VI e AE; e por ANOVA e Tukey para os demais experimentos, com 95% de confiança ( $p < 0,05$ ), usando o *software* IBM SPSS Statistics, versão 19.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Extração das pectinas

Imagens das pectinas produzidas podem ser vistas na Figura III 1. Os rendimentos (Tabela III 1) foram maiores (cerca de 22%) para os métodos de extração combinados (ultrassom + micro-ondas + enzimas – UMEAE, amostras 2 e 3) em comparação com a extração livre de enzimas (cerca de 18%, amostras 1 e 4). Portanto, as enzimas celulase e hemicelulase contribuíram para um pequeno, mas significativo aumento no rendimento das pectinas da casca da jabuticaba, sem diferença estatística entre as enzimas. As enzimas são capazes de catalisar a hidrólise da parede celular, com alto nível de seletividade, aumentando a permeabilidade celular e, assim, proporcionando um aumento na quantidade de pectina extraída (KUMAR *et al.*, 2020; MARIC *et al.*, 2018).

**Tabela III 1- Rendimento das produções de pectina**

<b>Tratamentos</b>	<b>Rendimento (%)</b>
<b>1 – UMAE</b>	17,79 ± 0,63 <sup>b</sup>
<b>2 – UMEAE (celulose)</b>	21,80 ± 2,25 <sup>a</sup>
<b>3 – UMEAE (hemicelulose)</b>	22,06 ± 0,42 <sup>a</sup>
<b>4 – Tratamento convencional</b>	18,38 ± 0,35 <sup>b</sup>

Média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são significativamente diferentes (p < 0,05).

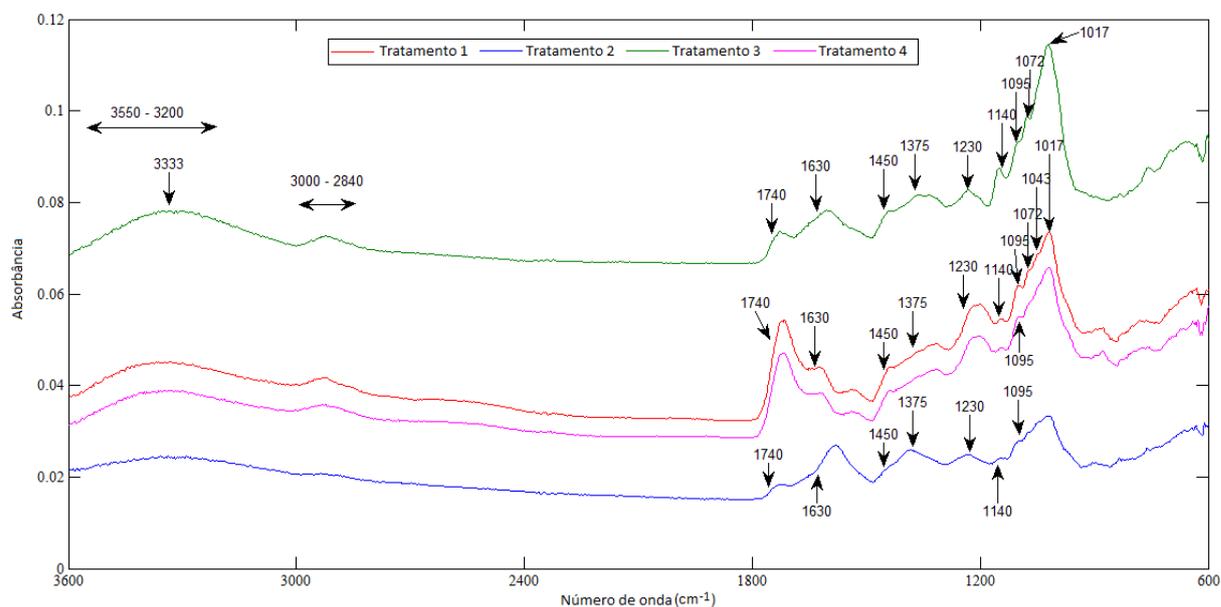
Encalada *et al.* (2019) também obtiveram aumento no rendimento de extração de pectina de cenouras descartadas com o uso de enzimas, o uso de celulase aumentou o rendimento de 6,9% para 12,4%. Combinando enzimas com ultrassom (US), Encalada *et al.* (2019) observaram o efeito sinérgico com o uso de hemicelulase, em que o rendimento aumentou de 20,6% (com o uso apenas de US) para 27,1%. A celulase combinada ao US não foi mais efetiva que o US apenas. E, isoladamente, a hemicelulase não proporcionou aumento no rendimento (ENCALADA *et al.*, 2019). No presente trabalho, a desorganização mecânica da rede celulose-hemicelulose da farinha de casca de jabuticaba, proporcionada pelo tratamento US, foi efetiva para ambas as enzimas, celulase e hemicelulase.

## 3.2 Caracterização das pectinas

### 3.2.1 FTIR e DM

Os espectros de FTIR das pectinas da farinha de casca de jabuticaba (Figura III 2) são semelhantes aos espectros de pectinas de frutos de quiabo (XU *et al.*, 2020) e de espinheiro (ROMAN *et al.*, 2021). Independentemente dos métodos de extração empregados neste estudo (com ou sem enzimas), observam-se semelhanças entre todos os espectros de pectina obtidos.

**Figura III 2- Espectros de FTIR das pectinas de farinha de casca de jabuticaba**



**Fonte: Dados da pesquisa.**

Uma banda larga e forte entre  $3550\text{ cm}^{-1}$  e  $3200\text{ cm}^{-1}$ , centrada em  $3333\text{ cm}^{-1}$  (indicativo de estruturas poliméricas), é característica da vibração de alongamento O–H, atribuída à ligação de hidrogênio intermolecular da cadeia principal de GalA. Uma banda de absorção mais fraca em  $3000\text{-}2840\text{ cm}^{-1}$  surge das vibrações de alongamento C–H do grupo CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> dos ésteres metílicos. Enquanto as vibrações C–H assimétricas e simétricas de flexão do metil ocorrem próximo de  $1450\text{ cm}^{-1}$  e  $1375\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Em  $1230\text{ cm}^{-1}$  surge o alongamento de –CH<sub>3</sub>CO. As bandas entre  $1200$  e  $900\text{ cm}^{-1}$  correspondem à região da impressão digital, característica de cada amostra e podem indicar variações na composição dos monossacarídeos neutros, visto que as vibrações presentes nesses compostos ocorrem nesta região do espectro. Os picos em  $1140$ ,  $1095$ ,  $1072$ ,  $1043$  e  $1017\text{ cm}^{-1}$  também foram relatados para amostras de pectinas cítricas com alto teor de metoxilas e pectinas de espinheiro purificadas (ROMAN *et al.*, 2021; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005; XU *et al.*, 2020).

A banda em  $1740\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à vibração de alongamento C=O dos grupos carboxila metilesterificados, e o pico em  $1630\text{ cm}^{-1}$  resulta do alongamento do grupo carboxilato ( $\text{COO}^-$ ). A proporção entre a área do pico em  $1740\text{ cm}^{-1}$  e a soma das áreas dos picos de  $1740\text{ cm}^{-1}$  e  $1630\text{ cm}^{-1}$  (correspondendo aos grupos carboxila totais) pode ser usada para prever DM (KYOMUGASHO *et al.*, 2015; LIEW *et al.*, 2016). Observando esses dois picos, é possível notar que as pectinas extraídas por UMEAE (espectro azul e verde) parecem ser de baixo DM e as pectinas obtidas apenas por US e aquecimento (espectros vermelho e rosa) de alto DM. Ademais, também pode ser observado que a banda na região de  $3000\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$ , que inclui as vibrações de alongamento C–H dos grupos metil, foi menos intensa para a pectina extraída com celulase (espectro azul), que apresentou menor DM (Tabela III 2).

**Tabela III 2- Grau de metilesterificação das pectinas**

<b>Tratamentos</b>	<b>DM (%)</b>
<b>1 – UMAE</b>	$52,93 \pm 0,71^a$
<b>2 – UMEAE (celulose)</b>	$44,65 \pm 2,02^c$
<b>3 – UMEAE (hemicelulose)</b>	$48,58 \pm 0,21^b$
<b>4 – Tratamento convencional</b>	$53,01 \pm 0,87^a$

Média  $\pm$  desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). DM = grau de metilesterificação.

Independentemente das variações apontadas anteriormente em relação ao tratamento, os valores de DM obtidos para as farinhas de casca de jabuticaba, de 44,65% a 53,01%, são elevados em comparação com pectinas extraídas da casca de limão doce (1,2–35,1%) (RAHMANI *et al.*, 2020); casca de kinnow (*Citrus nobilis* + *Citrus deliciosa*) peel. (37,17%) (GHOSHAL; NEGI, 2020), vagens de quiabo (39,5 - 43,6%) (XU *et al.*, 2020) e casca de caqui (41,35%) (JIANG *et al.*, 2020). No entanto, os valores de DM das pectinas de farinha de casca de jabuticaba são menores que os relatados para pectinas extraídas de bagas de espinheiro-alvar (61 e 64%) (ROMAN *et al.*, 2021); casca de limão sem (78,4 - 82,2%) e com enzimas (67,3 e 73,9%) (DOMINIÁK *et al.*, 2014) e casca de pomelo (59,85 - 67,01%). Em relação a esta última, a extração ocorreu por MW, US e suas combinações, sendo o menor DM obtido pela combinação das duas técnicas (LIEW *et al.*, 2016). A relação entre US e menores valores de DM também foi observada por Encalada *et al.* (2019) em pectinas de cenouras descartadas (37,2 vs. 48,0%), com valores de DM ainda menores com o uso de UEAE (24,0 e 27,0%).

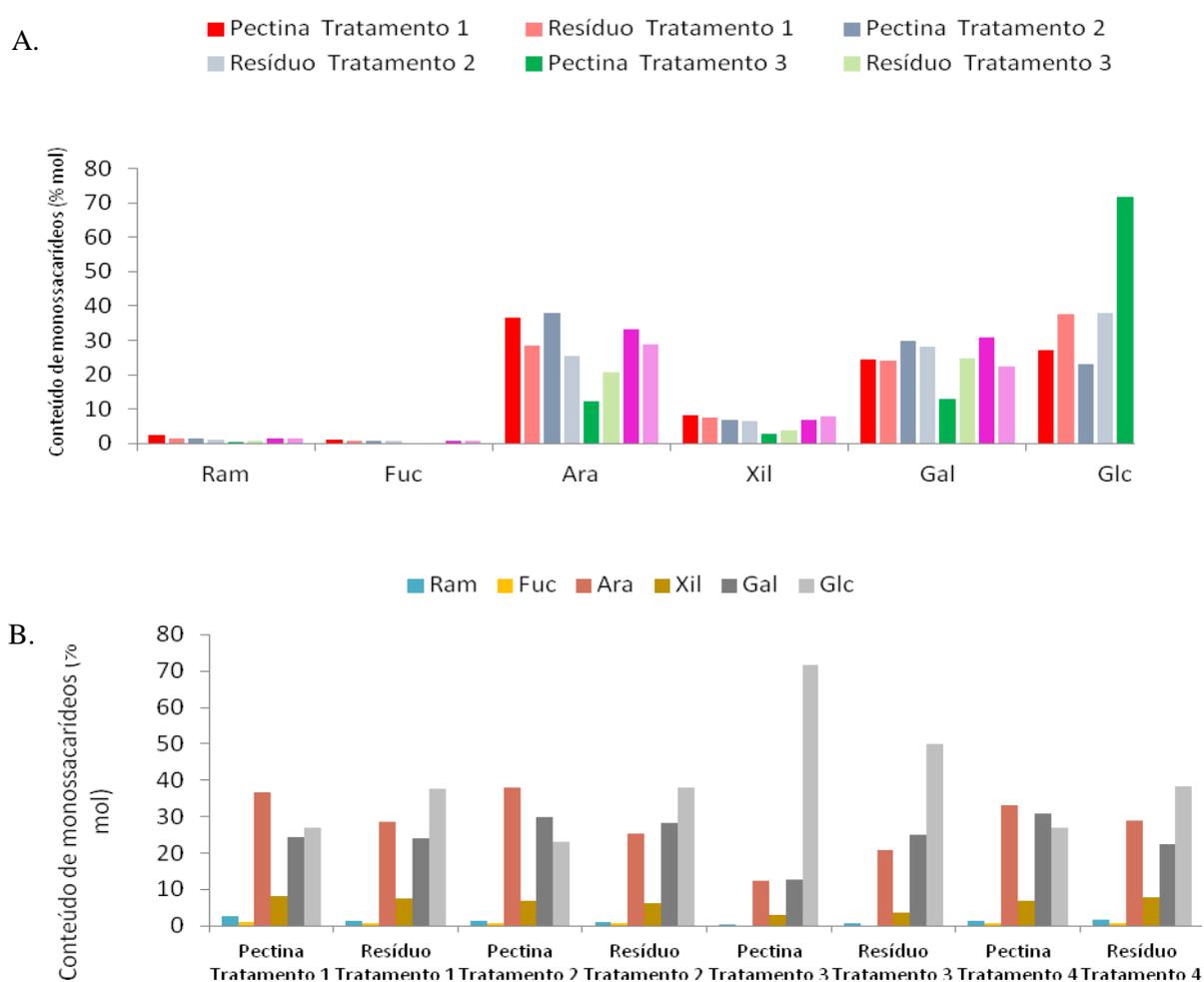
É possível que no presente estudo, o US tenha contribuído para a extração de LMP e de HMP com valores modestos de DM. Um tratamento sem US é necessário para essa investigação. Embora Chan *et al.*, (2017) cite que longos tempos de extração a baixa temperatura favoreçam a desesterificação da pectina, não foi observada diferença estatística entre o DM das pectinas extraídas por 5 horas de aquecimento em banho-maria (tratamento 4) e por 3 minutos em reator de MW (tratamento 1) (Tabela III 2). O que está de acordo com o estudo de Dranca *et al.* (2021) que, a partir de bagaço de maçã, obtiveram HMP cujos graus de esterificação foram semelhantes, seja usando MW ou aquecimento em banho-maria. LMP foi extraída em estudos utilizando pH menos básico: Encalada *et al.* (2019) obteve LMP de cenouras descartadas em todos os testes (com e sem US e/ou enzimas) a pH 5,2; e Ghoshal e Negi (2020), por extração com água quente, obtiveram uma pectina de casca de kinnow com DM de 37,17%, usando pH 5. Esses resultados sugerem que valores de pH menos ácidos podem ter contribuído para a extração de LMP da farinha de casca de jabuticaba. Essa hipótese é apoiada pela observação do aumento da atividade da enzima pectina metil esterase (que atua na desmetil esterificação) em pH próximo ao neutro e de sua inibição em altas concentrações de ácido cítrico (KURITA; FUJIWARA; YAMAZAKI, 2008). Um teste usando celulase em pH 4,5 (valor dentro da faixa de atividade, mas não ótimo), que foi usado para o tratamento com hemicelulase, pode indicar se o pH influencia a DM neste caso, ao contrário do estudo de Dominiak *et al.* (2014), em que foi observado maior DM com o uso de enzimas.

O DM interfere nas propriedades das pectinas e, conseqüentemente, na sua aplicação. HMP forma gel em altas concentrações de açúcar (55-75%) e sistemas ácidos (pH 2,50-3,50), e LMP formam gel em uma faixa mais ampla de pH (2-6), com ou sem uma pequena quantidade de açúcar, na presença de íons divalentes. HMP são usadas pela indústria de alimentos como agente gelificante, emulsificante, espessante e estabilizador na produção de geleias e para a obtenção de LMP por desesterificação. No entanto, métodos que extraem LMPs diretamente dos alimentos podem ser mais viáveis economicamente devido ao uso dessas pectinas como substituto de gordura em sorvetes e preparação de frutas para iogurte, na formação de géis em produtos isentos de sacarose, além do uso em embalagens comestíveis e encapsulamento (CHAN *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2020; MARIC *et al.*, 2018).

### 3.2.2 Monossacarídeos neutros

O uso de baixa temperatura para extração das pectinas teve por objetivo extrair pectinas mais intactas, ou seja, com a estrutura menos modificada, mais semelhante à original encontrada na parede celular. O perfil de açúcares neutros (Figura III 3) sugere que esse objetivo foi alcançado, visto que diferentes monossacarídeos foram identificados nas pectinas e, no caso da arabinose (Ara) em quantidades superiores ao que restou nos resíduos dos tratamentos 1, 2 e 4. De acordo com Chen *et al.* (2021), a extração de pectina em baixa temperatura ( $\leq 40^{\circ}\text{C}$ ) mantém a molécula mais intacta, caracterizada pela presença das cadeias laterais de açúcares neutros, que são identificadas em menor quantidade nas pectinas extraídas em temperaturas mais elevadas.

**Figura III 3- Distribuição de monossacarídeos neutros**



**A.** Pectinas em tons mais escuros e resíduos em tons mais claros. **B.** Composição de açúcares neutros das pectinas e dos resíduos de extração. Ram = ramnose; Fuc = fucose; Ara = arabinose; Xil = xilose; Gal = galactose; Glc = glicose.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

A análise da composição relativa dos monossacarídeos revelou que Ara é o principal monossacarídeo neutro presente nas pectinas obtidas nos tratamentos 1, 2 e 4 (nomeadamente pectinas 1, 2 e 4), seguido por galactose (Gal) em 2, 3 e 4. A pectina extraída com hemicelulose apresentou maior teor de glicose (Glc), sendo o segundo monossacarídeo mais presente na pectina 1 e o terceiro nas pectinas 2 e 4. Xilose (Xil), ramnose (Ram) e fucose (Fuc) apareceram em sequência em todas as pectinas produzidas, exceto pela ausência de Fuc na pectina 3. Perfis semelhantes foram descritos para pectina cítrica e extraída de espinheiro (ROMAN *et al.*, 2021). A pectina cítrica comercial com alto teor de metoxila também apresentou maior teor de Ara seguido por Gal, porém com maior quantidade de ramnose em relação a Glc e Xil. As pectinas de espinheiro-alvar não purificadas (para remoção de amido) apresentaram conteúdo expressivo de Glc, que foi bastante reduzido após a purificação, com predominância de Gal seguido por Ara e Ram (ROMAN *et al.*, 2021).

A menor proporção de ramnose em relação aos demais monossacarídeos nas pectinas de casca de jabuticaba pode ter ocorrido devido ao uso de uma temperatura mais baixa. Chen *et al.* (2021) compararam a extração de pectinas de *Citrus unshiu* em diferentes temperaturas (25, 40 e 85 ° C), e quantificaram níveis mais baixos de Ram e Gal em amostras extraídas em temperaturas mais baixas. No presente estudo, teores de Gal próximos aos de Ara podem ser devidos à maior quantidade desse monossacarídeo nas cascas de jabuticaba. Miranda *et al.* (2020) extraíram um heteropolissacarídeo da casca de jabuticaba por meio de ácido quente, cujo principal monossacarídeo identificado foi Gal (67,21%).

Chen *et al.* (2021) também observaram teores significativos de Ara em pectinas extraídas em baixas temperaturas, atribuídos à hidrólise de Ara, que foi extraído das cadeias laterais dos polissacarídeos, mas rendimentos mais elevados foram obtidos em temperaturas mais altas. Chen *et al.* (2021) relataram a facilidade de hidrólise de Ara por ácido quente, e que observaram menores quantidades de Ara nos resíduos de extração em temperaturas mais altas. Ara também foi identificado em resíduos de extrações de pectinas de cascas de jabuticaba em baixa temperatura, sugerindo que parte das pectinas permaneceu nos resíduos. A proporção de Ara foi menor entre os resíduos dos tratamentos que apresentaram maior rendimento (2 e 3), mostrando que as enzimas foram eficientes para hidrolisar compostos não pécticos.

A glicose foi o principal monossacarídeo encontrado nos resíduos das extrações de pectina, indicando que a celulose pode ter permanecido neles. A pectina extraída por celulase

apresentou o menor teor de Glc. No entanto, grande quantidade de glicose foi identificada na pectina extraída pela hemicelulase. Seria necessário mais uma etapa na purificação dessa pectina, conforme recomendado por Roman *et al.* (2021). A xilose também foi identificada nos resíduos das extrações de pectina, sugerindo a permanência de hemicelulose. A pectina extraída por hemicelulase apresentou a menor proporção de Xil. Embora parte da xilose presente no material extraído possa ser de polissacarídeos não pécticos, Xil também é um constituinte das pectinas. Chan *et al.* (2017) citam que as unidades GalA em homogalacturonana podem ser substituídas por resíduos de xilose nas posições C-2 ou C-3, gerando xilogalacturonana. A xilose também pode estar presente nas cadeias laterais de RG-I (formada por Ram e GalA), bem como outros monossacarídeos identificados neste estudo, como galactose e arabinose (predominantemente, formando galactana, arabinana e/ou arabinogalactana), além de glicose e fucose. RG-II também é formado pela presença de monossacarídeos neutros. Ferramentas analíticas como espectrometria de massa de dessorção/ionização a laser assistida por matriz, espectroscopia Raman por transformada de Fourier, eletroforese em gel de carboidrato, eletroforese capilar e outras podem fornecer informações sobre as estruturas finas das macromoléculas de pectinas (CHAN *et al.*, 2017; HOTCHKISS JR. *et al.*, 2021).

O perfil de monossacarídeo dá uma indicação das características de composição das pectinas, o que influencia em suas propriedades funcionais (CHAN *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2021). Atividade prebiótica foi previamente associada a oligossacarídeos pécticos ricos em arabinose e galactose (HOTCHKISS JR. *et al.*, 2021), compostos presentes nas pectinas extraídas de farinha de casca de jabuticaba.

### 3.2.3. Compostos fenólicos

As pectinas interagem com os polifenóis, formando complexos, nos quais as atividades fenólicas benéficas são preservadas, apresentando também efeitos sinérgicos benéficos para o trato digestivo (JAKOBEK; MATIĆ, 2019). A cianidina-3-glicosídeo (C3G) e o ácido elágico foram os principais compostos fenólicos encontrados em resíduo de jabuticaba (INADA *et al.*, 2020). Portanto, foram investigados em pectinas de farinha de casca de jabuticaba (Tabela III 3).

**Tabela III 3- Conteúdo de C3G e ácido elágico nas pectinas**

<b>Tratamentos</b>	<b>C3G (mg/100g)</b>	<b>Ácido elágico (mg/100g)</b>
<b>1 - UMAE</b>	176,77 ± 5,97 <sup>a</sup>	33,74 ± 2,85 <sup>a</sup>
<b>2 – UMEAE (celulose)</b>	104,31 ± 17,57 <sup>b</sup>	40,31 ± 9,05 <sup>a</sup>
<b>3 – UMEAE (hemicelulose)</b>	115,94 ± 18,13 <sup>b</sup>	24,85 ± 5,17 <sup>a</sup>
<b>4 – Tratamento convencional</b>	169,73 ± 13,93 <sup>a</sup>	30,80 ± 4,55 <sup>a</sup>

Média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são significativamente diferentes (p < 0,05). C3G = cianidina-3-glicosídeo.

O conteúdo de C3G nas pectinas extraídas variou de 104,31 a 176,77 mg/100g. Esses valores foram superiores aos relatados para as farinhas de bagaço de uva (0,5 a 7,2 mg/kg) (MONTEIRO *et al.*, 2021). As amostras dos métodos livres de enzima (pH 1,8) apresentaram teores mais elevados que as amostras extraídas em valores maiores de pH. Sabe-se que a estabilidade das antocianinas e sua ligação aos polissacarídeos pécticos dependem do pH. Em soluções ácidas, a forma de equilíbrio do cátion flavílio das antocianinas pode interagir com grupos carboxila livres desprotonados das pectinas. Portanto, quanto mais grupos carboxílicos livres disponíveis para ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, mais forte será a ligação. Assim, LMP tem maior capacidade de interagir com as antocianinas que HMP, conforme já descrito para C3G (FERNANDES *et al.*, 2020; HOTCHKISS JR. *et al.*, 2021). No presente estudo, a pequena variação do DM entre as amostras não permitiu essa observação; entretanto, as HPMs obtidas apresentaram valores discretos de DM (<70%), condição que permitiu a interação entre as pectinas e o C3G.

Os níveis de ácido elágico variaram de 30,80 a 40,31 mg/100 g, sem diferença estatística entre as amostras (p < 0,05). Esses valores são maiores que os encontrados em pó de polpa de camu-camu (*Myrciaria dubia*) (5,60 mg/100 g) e maiores que os registrados em farinha de resíduos de camu-camu (76,49 mg/100 g) (FRACASSETTI *et al.*, 2013). Inada *et al.* (2020) observaram que apenas 42% do ácido elágico total de um pó de casca e semente de jabuticaba era bioacessível após a digestão gástrica devido à maior proporção desses compostos ligados covalentemente às paredes celulares. No entanto, os autores registraram um aumento de 74% na liberação de ácido elágico após a digestão intestinal atribuído à liberação e despolimerização de elagitaninos conjugados à matriz alimentar. Após a fermentação intestinal, a bioacessibilidade final do ácido elágico foi de 30%, indicando sua metabolização pela microbiota intestinal em metabólitos de alta lipofilicidade, que são mais sujeitos à absorção no cólon (INADA *et al.*, 2020).

Esses pesquisadores também relataram diminuição da bioacessibilidade de C3G dos resíduos de jabuticaba após digestão gástrica (39% inicial) e intestinal (19% inicial), e fermentação colônica ( $\leq 7\%$ ), mostrando sua metabolização. Os autores ressaltaram, entretanto, que metabólitos de compostos fenólicos também possuem atividade biológica e podem ser responsáveis pelos efeitos benéficos da jabuticaba (INADA *et al.*, 2020). Seja pela absorção deles ou de seus metabólitos, a presença de C3G e ácido elágico nas pectinas é interessante, dados os benefícios já relatados desses compostos à saúde, como efeitos anti-inflamatórios (LIN *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2021) e eficácia para a prevenção ou melhora do diabetes mellitus tipo 2 (MATSUKAWA *et al.*, 2015; YOSHIMURA *et al.*, 2013).

### 3.2.4 Propriedades tecnológicas

As imagens das pectinas obtidas da farinha de casca de jabuticaba são apresentadas na Figura III 1 e seus parâmetros de cor na Tabela III 4. Os valores de luminosidade ( $L^*$ ) variaram de 13,08 a 20,59, embora não tenha havido diferença estatística entre as amostras ( $p < 0,05$ ). As pectinas de casca de jabuticaba são mais escuras que aquelas obtidas de cenouras descartadas por UAE + hemicelulase ( $L^* = 40,6$ ) e UAE + celulase ( $L^* = 47,2$ ) (ENCALADA *et al.*, 2019). A baixa luminosidade das amostras pode ser explorada para uso em alimentos integrais ou outros produtos escuros com alegação de propriedade funcional. De acordo com os valores de ângulo *Hue* (4,04-35,62), as pectinas extraídas apresentam tom avermelhado, característico do cátion flavílio C3G (FERNANDES *et al.*, 2020), com diferença de tom dependendo do pH de extração (mais próximo ao vermelho púrpura em valores de pH mais baixo, tratamentos 1 e 4). Em relação à intensidade de cor, a pectina extraída pela celulase foi a menos pigmentada ( $c^* = 3,14$ ) e a pectina extraída por banho-maria foi a mais pigmentada ( $c^* = 5,52$ ), sem diferença estatística para as pectinas dos tratamentos 1 e 3 ( $p < 0,05$ ).

**Tabela III 4- Parâmetros de cor das pectinas**

Tratamentos	$L^*$	$h^\circ$	$C^*$
<b>1 - UMAE</b>	13,08 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	4,04 $\pm$ 2,33 <sup>b</sup>	4,89 $\pm$ 0,77 <sup>a</sup>
<b>2 – UMEAE (celulose)</b>	16,73 $\pm$ 1,71 <sup>a</sup>	35,62 $\pm$ 9,20 <sup>a</sup>	3,14 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>
<b>3 – UMEAE (hemicelulose)</b>	20,59 $\pm$ 2,28 <sup>a</sup>	25,51 $\pm$ 5,01 <sup>a</sup>	4,67 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>
<b>4 – Tratamento convencional</b>	13,18 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	6,20 $\pm$ 0,67 <sup>b</sup>	5,52 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>

Média  $\pm$  desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Os resultados obtidos para as propriedades tecnológicas das pectinas extraídas e de uma pectina cítrica comercial (PCC) podem ser observados na Tabela III 5. As pectinas de cascas de jabuticaba e PCC não apresentaram diferença para IAA e IAO, sendo os valores para ambas as propriedades em torno de 1,0 g / g. IAA foi baixo em comparação com a fibra alimentar rica em pectina de casca de frutas cítricas (8,32 g/g) (HUANG *et al.*, 2021), mas o tempo durante o qual as fibras foram expostas à água foi mais longo para estas amostras (12 horas vs. 30 minutos neste estudo). Os valores de IAA foram mais próximos aos das pectinas de alperujo tratado termicamente (2,18 g/g) que foram submetidas a 5 h de contato com água (RUBIO-SENENT *et al.*, 2015); e ligeiramente superior à LMP de vagens de quiabo previamente secas em estufa (0,82 g/g) (XU *et al.*, 2020). IAA representa a quantidade de água retida pelas pectinas, sendo um fator que afeta a textura dos alimentos, e depende de diversos fatores, incluindo peso molecular (XU *et al.*, 2020). Xu *et al.* (2020) observaram degradação das moléculas de pectina (diminuição do peso molecular) quando a matéria-prima foi seca acima de 20 °C, com conseqüente diminuição do IAA. No presente estudo as cascas foram secas a 60 °C, portanto, a liofilização das cascas de jabuticaba poderia melhorar essa propriedade. O tempo de exposição das fibras à água também parece afetar o IAA e precisa ser mais investigado.

**Tabela III 5- Propriedades tecnológicas das pectinas**

<b>Amostras</b>	<b>IAO (g/g)</b>	<b>IAA (g/g)</b>	<b>VI (mL/g)</b>	<b>ISA (g/100g)</b>
<b>1 - UMAE</b>	1,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	7,00 ± 0,33 <sup>b</sup>	2,22 ± 0,66 <sup>ab</sup>
<b>2 – UMEAE (celulose)</b>	1,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,02 <sup>a</sup>	9,78 ± 0,77 <sup>ab</sup>	3,21 ± 0,49 <sup>ab</sup>
<b>3 – UMEAE (hemicelulose)</b>	1,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	15,11 ± 1,39 <sup>a</sup>	3,74 ± 0,40 <sup>a</sup>
<b>4 – Tratamento convencional</b>	1,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,03 <sup>a</sup>	7,33 ± 0,67 <sup>ab</sup>	2,27 ± 0,72 <sup>ab</sup>
<b>PCC</b>	1,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,04 ± 0,03 <sup>a</sup>	ND	2,01 ± 0,54 <sup>b</sup>

Média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são significativamente diferentes (p < 0,05). PCC = pectina cítrica comercial. IAO = índice de absorção de óleo; IAA = índice de absorção de água; VI = volume de intumescimento; ISA = índice de solubilidade em água. ND = não detectado.

Os valores do índice de absorção de óleo foram semelhantes aos das pectinas de alperujo (1,48 g/g) (RUBIO-SENENT *et al.*, 2015) e ligeiramente mais baixos que de uma fibra rica em pectina extraída de casca de laranja (2,12 g/g) (HUANG *et al.*, 2021) e de pectinas extraídas de frutos de quiabo (2,84 g/g) (XU *et al.*, 2020). IAO representa a quantidade de óleo absorvida pelas pectinas, afetando as propriedades sensoriais.

O volume de intumescimento variou de 7,00 a 15,11 mL/g, sendo comparável às fibras ricas em pectina extraída de casca de laranja (8,08 mL / g) (HUANG *et al.*, 2021). Os dados não seguiram a distribuição normal e o teste não paramétrico indicou diferença estatística entre os valores extremos. Porém, ao analisar os valores absolutos, pode-se notar que as pectinas obtidas pela UMEAE apresentaram maior valor de VI. O VI depende do conteúdo de pectina, tamanho de partícula e área superficial (HUANG *et al.*, 2021), fatores que não foram avaliados neste estudo. Li *et al.* (2014) observaram que MAE, EAE e UAE contribuíram para o aumento do VI (6,5; 7,2; e 7,3 mL/g, respectivamente) de fibra alimentar solúvel em água extraída de bagaço de maçã, em comparação com o método de extração convencional (2,5 mL/g). Os autores argumentaram que os efeitos da cavitação e do aquecimento intramolecular no rompimento da parede celular por US e MS, respectivamente, tornam a estrutura das fibras extraídas mais volumosa e porosa, permitindo que a água flua mais facilmente no interespaço das fibras. Eles discutiram, ainda, que a celulase pode destruir efetivamente a parede celular ao romper as cadeias polissacarídicas com ligação  $\beta$  (1-4), levando a uma redução do tamanho das partículas e aumento na área superficial das fibras extraídas, proporcionando maior retenção de água e exposição dos grupos mais hidrofílicos para a ligação de água (LI *et al.*, 2014).

A pectina extraída por hemicelulase foi a amostra mais solúvel em água (ISA = 3,74 g/100g) e estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) da amostra comercial, a menos solúvel (ISA = 2,01 g/100g).

Os resultados das propriedades emulsificantes das pectinas, atividade emulsificante (AE) e estabilidade da emulsão (EE), são exibidos na Tabela III 6. A amostra comercial de pectina (PCC) apresentou os menores valores para propriedades emulsificantes, com diferença estatística para a pectina extraída pela celulase (tratamento 2). A pectina extraída da casca de caqui (JIANG *et al.*, 2020) e as pectinas de espinheiro purificadas (ROMAN *et al.*, 2021) também mostraram melhor desempenho de emulsificação que pectinas cítricas comerciais. Entre as pectinas obtidas da farinha de casca de jaboticaba, a AE variou de 10,58 a 48,77% e a EE de 43,30 a 55,05%. A AE da pectina extraída pela celulase é semelhante à LMP das vagens de quiabo previamente secas em estufa (42,5%), cuja EE (36,8%) (XU *et al.*, 2020) foi inferior àquelas de todas as pectinas de cascas de jaboticaba.

Diferentemente do estudo de Xu *et al.* (2020), que extraíram pectinas de vagens de quiabo (previamente secas sob diferentes técnicas) pelo método convencional de aquecimento

em alta temperatura, todas as amostras do presente estudo melhoraram o desempenho da emulsificação após a desestabilização das emulsões em condições de alta temperatura, o que interfere nos fenômenos de formação de creme, como a coalescência. Por seu bom desempenho, pectinas da casca de jabuticaba podem ser testadas como emulsificantes de fonte natural em produtos como sorvetes, molhos, pães e bolos.

**Tabela III 6- Propriedades emulsificantes das pectinas**

<b>Amostras</b>	<b>AE (%)</b>	<b>EE (%)</b>
<b>1 - UMAE</b>	20,88 ± 3,76 <sup>ab</sup>	49,99 ± 6,20 <sup>ab</sup>
<b>2 – UMEAE (celulose)</b>	48,77 ± 6,73 <sup>a</sup>	55,05 ± 1,52 <sup>a</sup>
<b>3 – UMEAE (hemicelulose)</b>	10,58 ± 3,29 <sup>ab</sup>	43,30 ± 3,26 <sup>ab</sup>
<b>4 – Tratamento convencional</b>	13,41 ± 4,27 <sup>ab</sup>	46,88 ± 5,41 <sup>ab</sup>
<b>PCC</b>	5,57 ± 0,31 <sup>b</sup>	40,63 ± 4,27 <sup>b</sup>

Média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são significativamente diferentes (p < 0,05). PCC = pectina cítrica comercial. AE = atividade emulsificante; EE = estabilidade da emulsão. ND = não detectado.

Roman *et al.* (2021) e Xu *et al.* (2020) comentaram que a combinação dos fatores alto conteúdo de proteína, maior proporção de HG em relação a RG-I, menor DM (para fornecer estabilização eletrostática) e maior massa molecular dos polissacarídeos pécticos pode melhorar as propriedades emulsificantes. Consistente com essas observações, a pectina de farinha de casca de jabuticaba extraída por celulase apresentou menor DM e maiores AE e EE. O conteúdo de proteína, a razão HG/RG-I e a massa molecular não foram investigados.

Por outro lado, Jiang *et al.* (2020) argumentaram que os taninos nas pectinas extraídas de caqui podem ter contribuído para um bom desempenho emulsificante. Os autores destacam que os ácidos fenólicos podem se ligar a arabinose e galactose por ligações éster, e o grupo carboxila das pectinas pode ser reticulado intermolecularmente com o grupo hidroxila dos fenólicos por ligação de hidrogênio e interação hidrofóbica, formando uma rede heterogênea e agregada na fase contínua que melhora as propriedades emulsificantes (JIANG *et al.*, 2020). Cho, Yu e Hwang (2017) observaram que a incorporação de ácido elágico em emulsões de caseinato de sódio-HMP melhorou a estabilidade oxidativa ao reduzir hidroperóxidos lipídicos. O ácido elágico é pouco solúvel em água, porém devido à sua natureza ácida, ele se solubiliza melhor em um solvente básico (CHO; YU; HWANG, 2017). Apesar do teor de ácido elágico (Tabela III 6) nas pectinas extraídas não ter sido estatisticamente diferente (p >

0,05), em valores absolutos, a pectina extraída pela celulase (em pH menos ácido) apresentou um pouco mais de ácido elágico. No entanto, a estabilidade da emulsão não pode ser explicada apenas pelo teor de ácido elágico. Uma combinação dos fatores já mencionados contribui em conjunto para as propriedades emulsificantes observadas nas pectinas da casca de jabuticaba.

## 5 CONCLUSÕES

A combinação de US mais aquecimento por MW ou banho-maria e método UMEAE, a baixa temperatura, permitiu a extração de pectinas com estruturas menos modificadas em relação a como é a pectina na parede vegetal das cascas de jabuticaba, de acordo com a presença de diferentes açúcares neutros.

Todas as pectinas apresentaram luminosidade, IAA, IAO e conteúdo de ácido elágico sem diferença estatística entre elas. O MW e o banho-maria convencional, ambos após US, apresentaram eficácia semelhante, mas com menor tempo de reação por MW. Os maiores rendimentos foram obtidos pela UMEAE. Algumas diferenças foram observadas entre as pectinas extraídas com enzimas (e a valores de pH menos ácidos) e sem o uso de enzimas (e a pH mais ácido), no que diz respeito aos seguintes parâmetros: DM (LMP por enzima e pH menos ácido e HPM por tratamentos sem enzima e pH mais ácido); tom (vermelho púrpura em pH mais baixo); intensidade de cor e conteúdo de C3G (ambos maiores nos tratamentos livres de enzimas e a pH mais ácido). A pectina extraída por UMEAE com hemicelulase apresentou melhor desempenho emulsificante (maiores AE e ES) que a pectina cítrica comercial.

As cascas de jabuticaba são fonte potencial e natural de pectina com bom desempenho emulsificante e volume de intumescimento, bem como uma fonte dos antioxidantes C3G e ácido elágico. Além disso, essas pectinas, que têm estrutura mais parecida com a pectina tal como ela é na parede celular, podem ser exploradas para pesquisas sobre bioacessibilidade de nutrientes, pois são mais semelhantes às consumidas na forma de frutas frescas ou seus produtos.

## **CAPÍTULO 4**

### **INTERAÇÃO ENTRE POLIFENÓIS E FIBRAS ALIMENTARES DE FARINHA DE CASCA DE JABUTICABA: AVALIAÇÃO EM DIGESTÃO SIMULADA**

## 1 INTRODUÇÃO

Extratos de cascas de jabuticaba têm sido associados a diferentes efeitos biológicos desejáveis, como: propriedades antioxidantes (CALLONI *et al.*, 2020; PITZ *et al.*, 2016); atividade antimicrobiana, antitumoral e anti-inflamatória (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; LAMAS *et al.*, 2018; LAMAS *et al.*, 2020); efeito anti-hipertensivo (DE ANDRADE *et al.*, 2015); melhora do perfil lipídico plasmático (CALLONI *et al.*, 2020; LENQUISTE *et al.*, 2019) e modulação do metabolismo de glicose (LAMAS *et al.*, 2018; LENQUISTE *et al.*, 2019), entre outros. Os polifenóis, encontrados numerosamente nas cascas de jabuticaba, foram associados a esses efeitos. No entanto, as fibras alimentares, presentes em quantidades significativas e variáveis em cascas de jabuticaba (RESENDE, OLIVEIRA & FRANCA, 2020), são conhecidas por apresentarem efeitos metabólicos desejáveis, como controle glicêmico e melhora da sensibilidade à insulina (MAO *et al.*, 2021). Juntamente com os polifenóis, as fibras alimentares da casca de jabuticaba foram associadas à modulação da microbiota, promovendo saúde intestinal (BATISTA *et al.*, 2018). Dessa forma, o uso integral das cascas de jabuticaba pode ser mais vantajoso que o uso do extrato de seus polifenóis. A produção de farinha é uma estratégia para o consumo, visto a sazonalidade e perecibilidade dos frutos (LIMA, *et al.*, 2008; RESENDE; OLIVEIRA; FRANCA, 2020).

No entanto, é sabido que as fibras alimentares podem afetar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos, devido a interações entre estes e os polissacarídeos da parede celular (RENARD, 2019). Inada *et al.* (2020) observaram uma bioacessibilidade geral de 47% dos compostos fenólicos de um pó produzido a partir de cascas e sementes de jabuticaba. Em um pó apenas de cascas de jabuticaba, a bioacessibilidade de antocianinas foi de 0,08 a 2,3%; a de flavonóis variou de 0 a 36,8%; e a de taninos hidrolisáveis, de 1,2 a 166,0%. Embora percentualmente menor, as antocianinas foram os compostos mais abundantes na fração intestinal bioacessível (QUATRIN *et al.*, 2020). Apesar da baixa bioacessibilidade, a bioatividade é promissora, visto que polifenóis não acessíveis foram extensivamente metabolizados por bactérias intestinais a metabólitos fenólicos que parecem mais biodisponíveis e com maior atividade biológica que seus precursores (INADA *et al.*, 2020; QUATRIN *et al.*, 2020). Isso ocorre porque os polifenóis, associados às fibras, podem atingir o cólon, onde são liberados pela ação da microbiota e podem, eles mesmos ou seus catabólitos, ser absorvidos ou atuar localmente. (JAKOBEK; MATIĆ, 2019; SAURACALIXTO, 2011).

Os antioxidantes estão presentes nos alimentos na forma de: compostos de baixo peso molecular livres de interações; compostos fisicamente aprisionados em diferentes estruturas celulares; compostos de baixo peso molecular quimicamente ligados a macromoléculas; e na forma de materiais insolúveis, geralmente de alto peso molecular (GÖKMEN; SERPEN; FOGLIANO, 2009). Fazem parte desses dois últimos casos os fenólicos hidrolisáveis, taninos hidrolisáveis e taninos condensados (proantocianidinas; *non-extractable proanthocyanidins* - NEPA). Todos esses compostos são classificados como polifenóis não extraíveis (*non-extractable polyphenols* - NEPP) e interagem com a matriz alimentar (PÉREZ-JIMÉNEZ, DÍAZ-RUBIO & SAURA-CALIXTO, 2013). Antioxidantes dessas três classes de NEPP já foram encontrados em cascas de jabuticaba (QUATRIN *et al.*, 2019; QUATRIN *et al.*, 2020; RESENDE; OLIVEIRA; FRANCA, 2020).

Durante o processamento das farinhas (secagem e moagem) e no momento da alimentação (mastigação), os polifenóis livres podem entrar em contato com as fibras alimentares e ligar-se espontaneamente à sua superfície, processo conhecido por adsorção (BERMÚDEZ-ORIA, *et al.*, 2019; JAKOBEK & MATIĆ, 2019). Polifenóis extraíveis (*extractable polyphenols* - EPP) podem, ainda, associarem-se à NEPP presentes nas fibras alimentares (PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2013). Çelik e Gökmen (2014) demonstraram que unidades de ácido ferúlico esterificadas a unidades de arabinosilana, uma vez estando em suas formas radicais, o que pode ocorrer naturalmente, podem se ligar covalentemente a antioxidantes livres, que os regeneram.

Portanto, é possível que o mesmo mecanismo possa ocorrer com as cascas de jabuticaba. Polifenóis extraíveis podem se ligar às fibras alimentares por meio da interação com os polifenóis não extraíveis presentes nas fibras ou diretamente aos polissacarídeos. Esse mecanismo pode explicar a baixa bioacessibilidade das antocianinas e de outros fenólicos da casca de jabuticaba demonstrada anteriormente (INADA *et al.*, 2020; QUATRIN *et al.*, 2020) e que contrasta com aumento da capacidade antioxidante sérica observado em um estudo clínico com de pó de casca de jabuticaba (PLAZA *et al.*, 2016).

Estudos das interações entre polifenóis e fibras alimentares com cascas de jabuticaba são desconhecidos. Foram encontradas na literatura pesquisas de bioacessibilidade de polifenóis de resíduos de jabuticaba (INADA *et al.*, 2020; QUATRIN *et al.*, 2020), mas que não investigaram a relação dos antioxidantes com componentes da fibra. Essa investigação é importante para extrapolar a compreensão do comportamento dos compostos em matrizes

com diferentes proporções de fibras alimentares e compostos fenólicos, uma vez que Phan *et al.* (2017) já demonstraram que polissacarídeos específicos da parede celular apresentam diferentes capacidades de adsorção de polifenóis.

Foram também encontrados estudos que investigaram a adsorção de polifenóis por polissacarídeos da dieta, pela observação da redução de compostos livres após associação (LIN; FISCHER; WICKER, 2016) e digestão simulada (KOH; XU; WICKER, 2020a), usando padrões e extrato de polifenóis em polissacarídeos de mirtilo; mas sem avaliar a capacidade antioxidante final da porção polissacarídea. A avaliação da capacidade antioxidante dos polissacarídeos após a interação com os polifenóis foi realizada em estudos de adsorção de antioxidantes de extratos e bebidas em fibras alimentares, porém em matrizes alimentares distintas, como adsorção de fenólicos do chá verde em farelo de trigo (ÇELIK & GÖKMEN, 2014) e polifenóis de azeite em parede celular de morango (BERMÚDEZ-ORIA *et al.*, 2019).

Embora a importância da investigação da adsorção de polifenóis em componentes específicos de fibras, há prejuízo da estrutura original da fibra alimentar pelos métodos de obtenção dos materiais usados (fibras comerciais e isoladas de alimentos, parede celular e sólido insolúvel em álcool). A adsorção de polifenóis em fibras alimentares totais do próprio alimento, extraídas por método convencional de análise de fibras, ainda não foi apresentada e é importante para conhecer a seletividade da ligação quando os diferentes componentes da fibra alimentar estão todos no mesmo sistema.

Portanto, foi desenvolvido um método com o objetivo de investigar a adsorção de polifenóis da casca de jaboticaba em fibra alimentar total e pectina extraídas da própria casca de jaboticaba, além de celulose comercial, para auxiliar na compreensão das interações entre os polifenóis solúveis e as fibras alimentares contidas no próprio alimento. Este é o primeiro estudo que investiga a adsorção de polifenóis extraídos de casca de jaboticaba e o primeiro a usar fibra alimentar extraída por método gravimétrico como material adsorvente.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Materiais**

Farinha de casca de jabuticaba obtida anteriormente (conforme Capítulo 1) foi utilizada para os ensaios. Foi escolhida a amostra A3, por ter sido utilizada previamente para extração de pectina. A pectina extraída por celulase (conforme Capítulo 3) foi adotada para este estudo por estar disponível em maior quantidade e ser semelhante àquela originalmente presente nas cascas de jabuticaba, conforme perfil monossacarídeo ilustrado na Figura III.3 discutida no Capítulo 3 (subitem 3.2.2). Celulose comercial microcristalina foi obtida da marca Synth.

Ácido acético de grau de cromatográfico; os padrões de cianidina-3-glucosídeo (C3G) e ácido elágico (AE); as enzimas alfa amilase, pepsina e pancreatina; sais biliares e os reagentes Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich. Etanol e metanol de grau de cromatográfico foram adquiridos das empresas Panreac AppliChem e Honeywell, respectivamente. Os demais reagentes utilizados e citados nos métodos foram de grau analítico, das empresas Neon e Synth.

## 2.2 Métodos

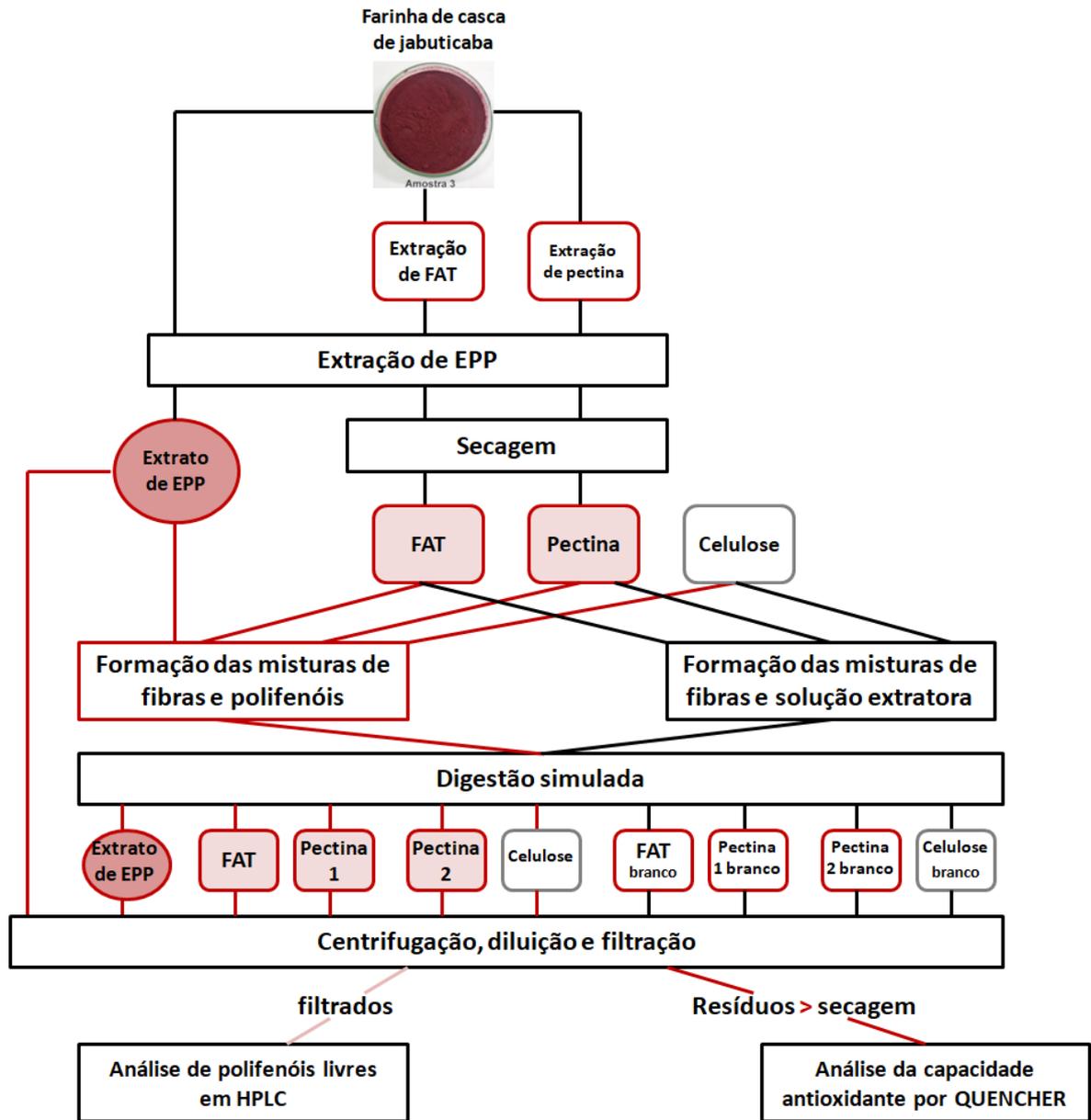
As etapas do método desenvolvido estão esquematizadas no fluxograma da Figura IV 1.

### 2.2.1 Extração e análise cromatográfica de polifenóis da farinha de casca de jabuticaba (FCJ)

A extração dos polifenóis e a quantificação de cianidina-3-glucosídeo e ácido elágico foram realizadas conforme descrito no Capítulo 2, porém com o extrato preparado em concentração diferente. A extração foi de acordo com Barros *et al.* (2019) e a análise cromatográfica, conforme Plaza *et al.* (2016), ambos com algumas modificações. Resumidamente, 0,8 g de FCJ foi submetido à extração com etanol 50% (v/v) acidificado com ácido acético (pH final  $3,0 \pm 0,1$ ). O procedimento foi realizado em banho ultrassônico a cerca 30 °C por 60 minutos, seguido por centrifugação e adição de etanol 50% (v/v) e novas centrifugações até descoloração. Os sobrenadantes foram reunidos e o pH ajustado para 3,0, quando necessário. O volume final dos extratos foi de 50 mL. Os extratos foram diluídos para

a concentração final de 0,0025 g/mL, filtrados (0,22 µm) e analisados por HPLC-DAD (520 e 350 nm), sendo as fases móveis: (A) ácido fórmico aquoso 0,5 % (v/v) e (B) 0,5 % (v/v) de ácido fórmico em metanol. O gradiente de eluição foi: 0 min, 5% (B); 0–5 min, 5% (B); 5–45 min, 50% (B); 45–53 min, 50% (B). A taxa de fluxo foi de 0,6 mL/min e o volume injetado de 20 µL.

**Figura IV 1- Fluxograma das etapas dos métodos**



Fonte: A autora.

### **2.2.2 Extração da fibra alimentar total (FAT) da FCJ**

A FAT foi extraída conforme o método gravimétrico não enzimático de análise de fibra alimentar total em alimentos e produtos alimentícios com menos de 2% de amido (Método AOAC 993.21) (AOAC, 2012), com pequenas modificações. 150 mL de água destilada foram adicionados a 3 g de FCJ. O conjunto foi colocado em banho ultrassônico por 5 minutos. Após, foi incubado a 37 °C por 90 minutos em banho-maria, sem agitação. Posteriormente, foram adicionados 600 mL de etanol 95% (v/v) e o conjunto foi deixado em repouso por uma hora, à temperatura ambiente. Na sequência, o material foi filtrado, lavado com etanol 95% (v/v) e seco em estufa convectiva a 60 °C por 16 horas.

### **2.2.3 Preparação da FAT e da pectina**

Fenólicos extraíveis foram removidos de FAT e pectina, tal como descrita a extração de polifenóis da FCJ (subitem 2.2.1), porém usando 0,3 g de amostra, 10 mL de etanol 50% (v/v) com ácido acético (pH final  $3,0 \pm 0,1$ ) para a etapa no ultrassom e volumes de 10 e 5 mL de etanol 50% (v/v) na etapa de centrifugação. Os sobrenadantes foram descartados e os resíduos foram lavados com etanol 70% (v/v) (1 vez com 10 mL e 1 vez com 5 mL) e, por fim, com 5 mL de água para remoção de extrato que pudesse estar presente no material. Os resíduos foram, então, secos em estufa convectiva a 40 °C por 90 minutos. Parte do material foi utilizada para adsorção em digestão simulada e outra foi conservada a cerca de -18 °C até a avaliação da capacidade antioxidante das fibras (conforme subitem 2.2.5).

### **2.2.4 Ensaio de adsorção em digestão simulada**

Em tubos Falcon de 50 mL foram misturados 6 mL de extrato de FCJ (concentração = 0,016 g FCJ/mL) a: 0,028 g de FAT; 0,006 g de pectina (Pectina 1) e 0,033 g de celulose. A concentração foi calculada para simular aquela encontrada nas FCJ, tendo sido adotados os percentuais de fibra alimentar solúvel e insolúvel de A3 (conforme Capítulo 1) para os cálculos de pectina e celulose, respectivamente. Em um segundo momento, foram feitos ensaios com 0,028 g de pectina (Pectina 2) para comparação com mesma massa de FAT, verificando interferência da quantidade de adsorvente. Foram preparadas amostras controle sem fibra (apenas com 6 mL de extrato), chamadas de controle de extrato; e sem extrato, com

as mesmas massas de fibras misturadas a 6 mL da solução extratora (etanol 50% com ácido acético; pH final 3,0), chamadas de controle de fibra (branco).

As misturas passaram por três etapas, simulando o processo digestivo, conforme descrito por Bermúdez-Oria *et al.* (2019), com pequenas modificações:

*Boca:* O pH das misturas foi ajustado para pH 6,9 com solução de hidróxido de sódio 10 M e adição de 1 mL de tampão fosfato diluído (pH 6,9) contendo  $\alpha$ -amilase (1 g/L), 1,336 mM de cloreto de cálcio, 0,174 mM de sulfato de magnésio, 12,8 mM de dihidrogenofosfato de potássio e 23,8 mM de bicarbonato de sódio. Os tubos foram incubados em incubadora com agitação orbital (Químis, modelo Marco Q-250), a 37 ° C, por 5 minutos, a 250 rpm.

*Estômago:* o pH foi reajustado para pH 2 com uma solução de cloreto de potássio 5 mM, cloreto de sódio 130 mM e ácido clorídrico 0,5 N. Foram adicionados 330  $\mu$ L de solução de pepsina (0,2 g de pepsina da mucosa gástrica suína/5 mL de ácido clorídrico 0,1 M) e os tubos foram incubados a 37 ° C, por 60 minutos, a 250 rpm.

*Intestino delgado:* O pH foi gradualmente aumentado para pH 6-7 pela adição de bicarbonato de sódio 0,5 M. Foi adicionado 0,5 mL de solução de sais biliares e pancreatina (50 mg de sais biliares de suíno e 10 mg de pancreatina de pâncreas suíno/2,5 mL de bicarbonato de sódio 0,1 M). Os tubos foram incubados a 37 ° C, por 120 minutos, a 250 rpm. Após a incubação, a atividade enzimática foi encerrada pela adição de ácido clorídrico até pH 3.

As amostras foram centrifugadas a 3500 rpm, por 5 minutos. As misturas foram diluídas com água ultrapura para 100 mL e uma alíquota foi filtrada em filtro de seringa (0,22  $\mu$ m) para quantificação dos teores de C3G e AE em HPLC.

### **2.2.5 Avaliação da capacidade antioxidante das fibras alimentares antes e após a digestão**

Às amostras de FAT, pectina e celulose pós-digestão, foram adicionados 10 mL de água destilada. Os tubos foram agitados e posteriormente centrifugados por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o procedimento foi feito mais duas vezes, para remoção de resíduos solúveis. Após, as fibras foram secas em estufa convectiva a 40 °C, por 90 minutos. As amostras foram conservadas a cerca de -18 °C até o momento do teste.

As alterações na capacidade antioxidante das fibras antes e após a digestão simulada foram avaliadas pelo procedimento direto QUENCHER, proposto por Gökmen, Serpen e Fogliano (2009) e conforme descrito em Serpen, Gökmen e Fogliano (2012), com pequenas modificações. As fibras foram moídas em almofariz e 5 mg de cada uma foram adicionados em tubos Falcon protegidos da luz, com mais 5 mg de celulose pura para diluição. A reação foi iniciada adicionando 10 mL de solução de DPPH• em etanol 50% (absorbância de 0,75 a 525 nm). Os tubos foram agitados em vórtex e colocados em incubadora com agitação orbital, a 25 °C e 300 rpm até a centrifugação por 2 minutos a 3500 rpm. Os sobrenadantes foram transferidos para uma cubeta e a absorbância foi medida a 525 nm usando um espectrofotômetro de UV-visível (Micronal, AJX 1900). O tempo total de reação foi de 30 minutos, conforme usado por Çelik, Gökmen e Fogliano (2013).

Uma curva de calibração foi construída com soluções metanólicas de Trolox. A porcentagem de inibição do radical DPPH• foi calculada pela equação:

$$\text{Inibição}_{(\text{amostra})} (\%) = (\text{Absorbância}_{(\text{branco})} - \text{Absorbância}_{(\text{amostra})}) / \text{Absorbância}_{(\text{branco})} \times 100 \quad (1)$$

A capacidade de eliminação de radicais livres das amostras em base seca é chamada de TEAC e calculada pela equação:

$$\text{TEAC (mmol Trolox Eq./kg amostra)} = (\% \text{ inibição}_{(\text{amostra})} / a \times m) \times 10 \quad (2)$$

Em que: *a* representa o declive da curva de calibração; *m* é a quantidade de amostra em base seca (mg) e 10 é o fator de conversão para obter valores TEAC em mmol de equivalente de Trolox/kg de amostra.

### 2.2.6 Análise estatística

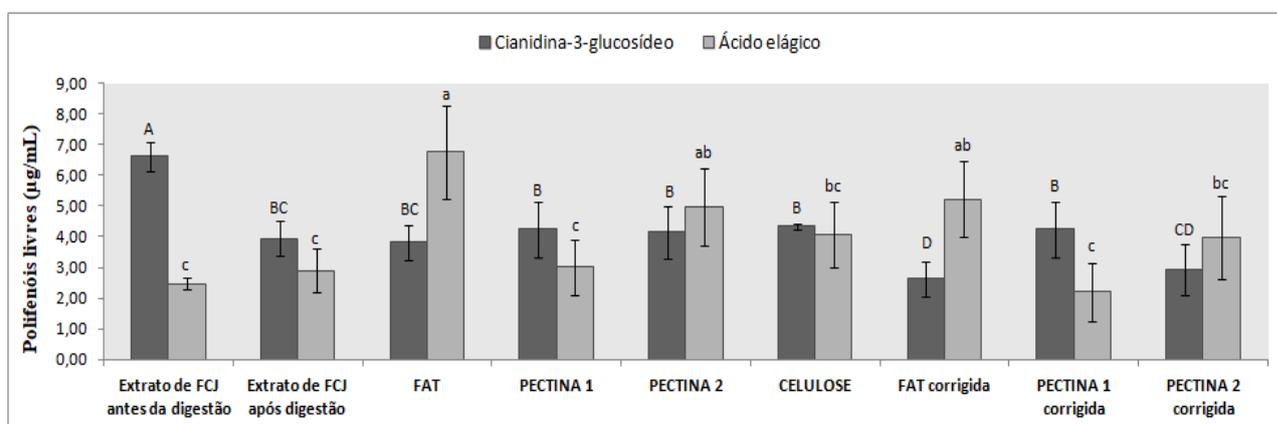
À exceção dos extratos de FCJ antes da digestão e dos controles de extrato (n=4), todos os testes foram realizados em triplicata. Os dados foram expressos em média ± desvio padrão. A normalidade foi verificada pelo método de Shapiro-Wilk. Diferenças entre as médias foram investigadas pelos testes ANOVA e Duncan, com 95% de confiança (p<0,05). Foi utilizado o software IBM SPSS Statistics, versão 19.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Interação entre os polifenóis e as fibras alimentares

Os conteúdos de cianidina-3-glicosídeo e ácido elágico livres nos filtrados antes e após a digestão simulada estão indicados na Figura IV 2. C3G e AE apresentaram comportamentos opostos após a digestão. O conteúdo de C3G livre sofreu redução durante o processo e o de AE, aumentou na presença das fibras. Esses comportamentos também foram observados após digestão *in vitro* de pós de resíduos de jabuticaba por Inada *et al.* (2020) e Quatrin *et al.* (2020).

Figura IV 2- Gráfico do conteúdo dos polifenóis livres nos filtrados



Letras maiúsculas diferentes denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) dos conteúdos de cianidina-3-glicosídeo entre as amostras e diferentes letras minúsculas denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) dos conteúdos de ácido elágico entre as amostras. FAT = fibra alimentar total. Pectina 1 = menor concentração de pectina. Pectina 2 = maior concentração de pectina. FAT/Pectina 1/Pectina 2 corrigidas = referem aos dados das misturas de extrato mais FAT, Pectina 1 e Pectina 2, respectivamente, menos os resultados dos controles de fibra (fibras com solução extratora).

Fonte: Dados da pesquisa.

##### 3.1.1 Cianidina-3-glicosídeo

No controle de extrato (sem fibra), o teor de C3G reduziu em 40%. Koh *et al.* (2020) observaram redução de 99% do conteúdo de antocianinas em extrato de mirtilo e 88% de redução de C3G em uma solução padrão após digestão intestinal *in vitro*. A menor

recuperação de antocianinas em amostras submetidas à digestão simulada foi atribuída por Inada *et al.* (2020) aos valores de pH neutro a alcalino encontrados no intestino, nos quais predomina a instável pseudobase carbinol. Fernandes *et al.* (2014) explicam que as metodologias mais usadas para detecção de antocianinas baseiam-se na forma catiônica e na conversão total dos compostos a esta forma em meio ácido, mas que essa conversão pode não ser completa, o que leva a uma subestimação das antocianinas. Os pesquisadores ainda destacam que os compostos podem ser metabolizados, o que inviabiliza a conversão de volta à forma catiônica após a acidificação. Portanto, a redução observada no conteúdo de C3G após a digestão simulada não pode ser atribuída à completa degradação do composto, visto as limitações experimentais do método de análise.

Subtraindo o conteúdo de C3G que é liberada da fibra para o meio (controle de fibra) (Tabela IV 1) do conteúdo de C3G livre no filtrado de extrato mais FAT, tem-se o conteúdo de C3G identificado no gráfico por “FAT corrigida”. Esse conteúdo foi significativamente menor que aquele do controle de extrato (Figura IV 2), indicando que houve adsorção de C3G do extrato da farinha de casca de jabuticaba pela fibra alimentar total da farinha. Se atribuída a diferença entre o conteúdo do controle de extrato e de “FAT corrigida” ao conteúdo de C3G ligada à fibra, este valor corresponde a 33% da C3G disponível quantificável.

A amostra de pectina com a mesma massa de FAT, chamada de “Pectina 2”, foi chamada de “Pectina 2 corrigida” (Figura IV 2) quando subtraído o conteúdo do controle de fibra correspondente (indicado na Tabela IV 1). Embora o conteúdo de C3G livre de “Pectina 2 corrigida” não tenha sido estatisticamente diferente daquele do controle de extrato, também não foi diferente do conteúdo de “FAT corrigida”. Considerando a diferença entre “Pectina 2 corrigida” e o controle de extrato como a C3G ligada, esse valor corresponde a 25% da C3G disponível quantificável.

As amostras “FAT” e “Pectina 2”, quando não descontada a C3G liberada pelas fibras (controles de fibra), não são estatisticamente diferentes do controle de extrato. Essas amostras foram apresentadas no gráfico (Figura IV 2) para observação da acessibilidade dos compostos, que inclui todo o conteúdo não ligado, seja advindo de polifenóis inicialmente livres ou desprendidos das fibras durante a digestão.

**Tabela IV 1- Conteúdo de polifenóis livres em filtrado pós-digestão simulada dos controles de fibra (brancos) ( $\mu\text{g/mL}$ )**

	<b>FAT</b>	<b>Pectina 1</b>	<b>Pectina 2</b>	<b>Celulose</b>
<b>Cianidina-3-glicosídeo</b>	1,18 $\pm$ 0,02	ND	1,22 $\pm$ 0,01	ND
<b>Ácido elágico</b>	1,53 $\pm$ 0,48	0,79 $\pm$ 0,06	0,99 $\pm$ 0,13	ND

ND = Não detectado.

Conforme esperado, o controle de celulose não liberou polifenóis durante a digestão, visto que foi utilizada uma amostra comercial (Tabela IV 1). No filtrado da amostra controle de “Pectina 1” também não foi quantificada C3G (Tabela IV 1), possivelmente devido à pequena quantidade de massa (0,006 g), referente à quantidade de fibra alimentar solúvel presente na FCJ utilizada. As quantidades de C3G livre quantificadas nos filtrados de “Pectina 1” e “Celulose” não são estatisticamente diferentes do controle de extrato, mas diferentemente de “Pectina 2 corrigida”, são maiores que aquelas do controle sem fibra. Desse modo, não é possível calcular valores de C3G ligadas a essas fibras. Usando a mesma forma de cálculo deste trabalho, Koh, Xu e Wicker (2020) calcularam antocianinas ligadas à pectina de mirtilo, após 18 horas de incubação da mistura a 4°C. No entanto, quando os complexos foram submetidos à digestão simulada, foi observada liberação de C3G das fibras durante o processo de simulação gástrica a pH 2, e redução das antocianinas livres após a simulação intestinal (pH 7). Porém, foi observada menor redução dos compostos livres nos testes com presença de fibra em detrimento do controle sem fibra, tal como no presente estudo, o que foi atribuído a uma proteção da estabilidade das antocianinas pela pectina. Os autores explicam que os domínios lineares da pectina, carregados negativamente, podem interagir com a posição 2 do íon flavílio, durante a etapa gástrica, protegendo-o do ataque nucleofílico que ocorre com o aumento do pH na etapa intestinal (KOH; XU; WICKER, 2020). Embora não seja possível afirmar que o mesmo ocorreu no presente estudo, pela observação apenas dos conteúdos de C3G livre, visto a falta de diferença estatística, a análise da capacidade antioxidante das fibras contribuirá para essa observação, como será discutido posteriormente.

Em relação à influência da quantidade de pectina na adsorção, a não quantificação de C3G despreendida pela massa menor (Tabela IV 1) foi o que influenciou a diferença estatística observada entre as amostras com desconto do branco.

### 3.1.2 Ácido elágico

Não houve diferença estatística no conteúdo de AE livre do extrato de FCJ antes e após a digestão (Figura IV 2). No entanto, houve aumento estatisticamente significativo do teor de AE livre nas amostras com FAT e com 0,028 g pectina (“Pectina 2”). Inada *et al.* (2020) e Quattrin *et al.* (2020) também observaram aumento do conteúdo de AE livre após a fase intestinal de digestão *in vitro* de pós de resíduos de jabuticaba, que foi atribuído à liberação e despolimerização de elagitaninos conjugados a componentes da matriz alimentar, como fibras e proteínas, provocadas pelo aumento do pH, visto que, em estudo anterior, Inada *et al.* (2019) já haviam identificado a presença de grande quantidade de elagitaninos em resíduos de jabuticaba.

Os conteúdos de AE desprendidos dos controles de fibra estão expressos na Tabela IV 1. O uso desses controles e do controle de extrato, neste estudo, confirma a liberação e despolimerização de elagitaninos das fibras alimentares de cascas de jabuticaba sugerida por Inada *et al.* (2020). É importante lembrar que os controles das fibras foram feitos com as fibras após a extração dos compostos solúveis, portanto, os polifenóis quantificados nos filtrados desses controles estavam de alguma forma conjugados à matriz. Mesmo no filtrado do controle de menor massa de pectina (0,006 g) foi encontrado AE, diferentemente de C3G. Inclusive, o conteúdo de polifenóis liberados do controle de Pectina 1 por área de fibra (Tabela IV 2) foi superior às outras amostras, possivelmente pela maior oferta de solução extratora por massa de amostra. Apenas no filtrado do controle de celulose não foi quantificado AE, visto se tratar de uma fibra comercial.

**Tabela IV 2- Conteúdo de polifenóis liberados dos controles de fibra (brancos) por massa de fibra ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  fibra)**

	FAT	Pectina 1	Pectina 2	Celulose
<b>Cianidina-3-glicosídeo</b>	4,22 $\pm$ 0,08	ND	4,35 $\pm$ 0,05	ND
<b>Ácido elágico</b>	5,47 $\pm$ 1,71	13,11 $\pm$ 1,08	3,53 $\pm$ 0,46	ND

ND = Não detectado.

No entanto, embora não estatisticamente significativo, o conteúdo de AE no filtrado de “Celulose” foi superior ao do controle de extrato. O mesmo ocorreu com “Pectina 1” e “Pectina 2 corrigida”, o que sugere que as fibras podem ter contribuído para a preservação da estabilidade do AE, como sugerido para C3G e discutido posteriormente.

Além da proteção dos compostos pelas fibras, também parece que os polifenóis presentes no extrato contribuem para a formação e/ou proteção do AE. Isso por que, descontado o conteúdo de AE liberado dos controles dessas fibras (Tabela IV 1), os conteúdos de AE de “FAT corrigida” e “Pectina 2 corrigida” são, ainda, superiores àquele do controle de extrato. O conteúdo de AE de “Pectina 2 corrigida” não diferiu estatisticamente daquele do controle de extrato, mas também não foi diferente do teor de “Pectina 2”. A análise da capacidade antioxidante das fibras poderá ajudar nessa compreensão, conforme discutido adiante.

A diferença entre as amostras com massas distintas de pectina, pode ser explicada pela menor liberação e despolimerização de elagitaninos da fibra de menor massa. No entanto, com o desconto do conteúdo do controle com 0,006 g de pectina, o teor de AE de “Pectina 1 corrigida” foi o único inferior ao do controle de extrato, embora sem diferença estatística. Mas, permitindo o cálculo de AE adsorvido, que correspondeu a cerca de 24% do conteúdo presente no extrato de FCJ.

### **3.2 Capacidade antioxidante das fibras alimentares**

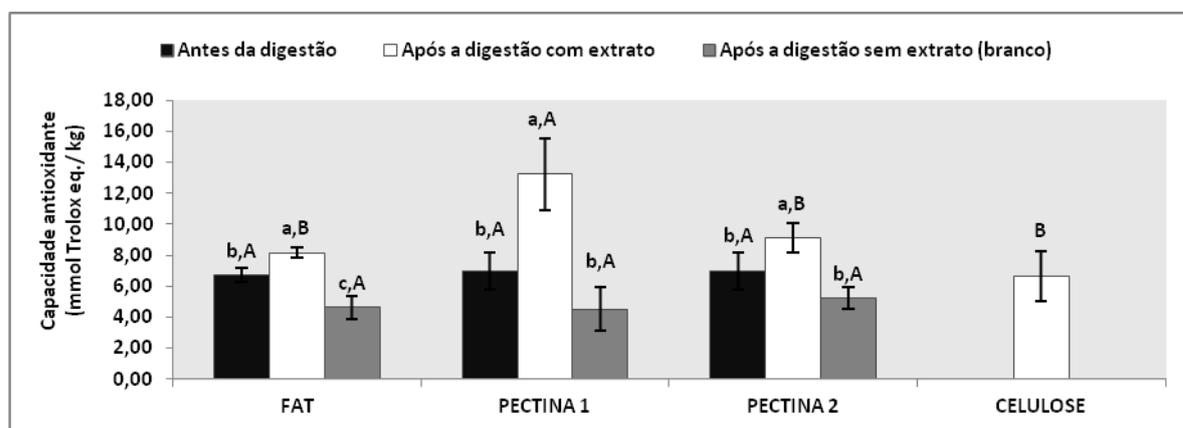
O método QUENCHER permite identificar se houve de fato a adsorção de polifenóis pelas fibras alimentares. Parte dos compostos pode ter sido preservada pelas fibras da degradação ou metabolização, como sugerido anteriormente, e sido adsorvida, sem que pudesse ser quantificado por polifenóis livres no filtrado e, portanto, sem apresentar diferença estatística com o conteúdo do controle de extrato, que não teve fibras para promover a preservação dos compostos.

A medida direta da capacidade antioxidante das fibras, sem necessidade de extração dos compostos, como feita pelo teste QUENCHER, é muito vantajosa e adequada para este ensaio que avalia a interação entre fibras e polifenóis. Gökmen, Serpen e Fogliano (2009) explicaram que o método permite a avaliação da capacidade antioxidante promovida tanto por EPP quanto por NEPP, uma vez que colocando o alimento sólido em contato direto com uma solução reagente radical, EPP reage com os radicais presentes no solvente como ocorre em uma reação líquido-líquido usual, enquanto NEPP exerce sua capacidade antioxidante por meio da reação superficial que ocorre na interface sólido-líquido, em que a fase sólida é

representada pelos grupos antioxidantes ligados às fibras e a fase líquida, pelos radicais livres do solvente. Uma vez que o procedimento é baseado em uma reação de superfície entre sólidos e líquidos, representados por antioxidantes e radicais, respectivamente, ele é indicado para avaliação da adsorção de polifenóis em fibras alimentares. No presente estudo, as fibras passaram pela extração dos EPP anteriormente à digestão e, após esta, foram lavadas com água, como descrito anteriormente (subitem 2.2.5), para remoção de resíduo solúvel. Portanto, o método QUENCHER foi empregado para avaliação dos polifenóis integrados às fibras.

Na Figura IV 3 estão indicadas as capacidades antioxidantes das fibras. Nota-se que não houve diferença estatística entre a capacidade antioxidante de FAT e de pectina antes da digestão *in vitro*. Isso indica que o conteúdo de polifenóis ligados à pectina e às fibras totais é similar. Por ter sido usada celulose comercial, não foi detectada atividade antioxidante nessa fração de fibra antes da digestão, como esperado.

**Figura IV 3- Gráfico da capacidade antioxidante das fibras alimentares**



Letras minúsculas diferentes denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para a mesma fibra, em etapas diferentes; e letras maiúsculas diferentes denotam diferenças significativas entre as fibras para uma mesma etapa ( $p < 0,05$ ). FAT = fibra alimentar total. Pectina 1 = menor concentração de pectina. Pectina 2 = maior concentração de pectina.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Verifica-se, também, que houve redução da capacidade antioxidante nos controles de fibra (amostras sem extrato) após a digestão, como era esperado, visto que polifenóis foram identificados nos filtrados dessas amostras (Tabela IV 1). No entanto, apenas o controle de FAT apresentou diferença estatisticamente significativa para a amostra de FAT antes da digestão. Para as pectinas, não houve diferença estatística dos controles de fibras para as

amostras antes da digestão, embora em valores absolutos haja uma diferença mensurável entre elas. Após a digestão não houve diferença estatística para a capacidade antioxidante entre os controles das fibras.

Como principal resultado dessa análise, nota-se o aumento da capacidade antioxidante de todas as fibras extraídas da FCJ, assim como sua detecção na celulose, após a digestão, indicando que houve adsorção de polifenóis. Considerando que FAT e pectina perderam compostos para a solução durante a digestão, foi calculada a capacidade antioxidante das fibras conferida pelos polifenóis adsorvidos, por meio da diferença entre a capacidade antioxidante das amostras após a digestão e aquela dos controles das fibras (brancos) pós-digestão (Tabela IV 3), como forma de mensurar a adsorção pelas diferentes fibras. Observando-se esses dados, nota-se que não houve diferença estatística entre FAT e a amostra de pectina com mesma massa (Pectina 2), resultado este compatível com o fato de não ter sido observadas diferenças estatísticas entre os conteúdos de C3G e AE livres nos filtrados de “FAT corrigida” e “Pectina 2 corrigida”.

No entanto, Pectina 1 e celulose apresentaram a maior capacidade antioxidante por massa de amostra, o que não é comparável com as reduções de C3G livre nos filtrados de Pectina 1 e celulose; e com o conteúdo de AE livre no filtrado de celulose. Já para “Pectina 1 corrigida”, foi possível calcular a adsorção de cerca de 24% do AE disponível, o que indica que esse conteúdo pode ter contribuído para a capacidade antioxidante mensurada para esta fibra. No entanto, é importante destacar que a medida da capacidade antioxidante pelo procedimento QUENCHER é dada em equivalente de Trolox por massa de amostra. Como Pectina 1 tinha uma massa cerca de 80% menor que as outras amostras, não necessariamente ocorreu mais adsorção de polifenóis livres em Pectina 1. O resultado mostra que, mesmo uma pequena massa é capaz de adsorver uma dada quantidade de polifenóis, porém ela ficará com mais antioxidantes por área ou por unidade de massa. Apesar de Pectina 1 ficar com mais sítios de ligação ocupados, por ser uma massa pequena não foi possível mensurar a diferença estatística nos polifenóis livres. Na Tabela IV 4 estão dispostos os conteúdos de polifenóis livres dos extratos de FCJ por massa de fibra nas misturadas submetidas à digestão simulada. Nota-se em Pectina 1 mais polifenóis livres disponíveis por massa de fibra. Essa observação ressalta que, assim como demonstrado por Phan *et al.* (2015) com celulose, a ligação não é limitada pelos locais interativos disponíveis na estrutura das fibras, sendo dependente da quantidade de moléculas de polifenóis disponíveis na solução aquosa. Koh, Xu e Wicker, (2020b) também observaram, por estudos de cinética de ligação, que a quantidade de

antocianinas ligadas à pectina de mirtilo aumentou de forma não linear com o aumento da concentração de antocianinas livres.

**Tabela IV 3- Capacidade antioxidante das fibras conferida pelos polifenóis adsorvidos**

	Capacidade antioxidante (mmol Trolox Eq./ kg amostra)
<b>FAT</b>	3,52 ± 1,05 b
<b>Pectina 1</b>	8,71 ± 1,17 a
<b>Pectina 2</b>	3,91 ± 1,53 b
<b>Celulose</b>	6,64 ± 1,63 a

**Tabela IV 4- Conteúdo de polifenóis livres dos extratos de FCJ por massa de fibra nas misturadas submetidas à digestão simulada**

	FAT (g)	Pectina 1 (g)	Pectina 2 (g)	Celulose (g)
<b>Cianidina-3-O-glucosídeo (mg)</b>	23,57	110,00	23,57	20,00
<b>Ácido elágico (mg)</b>	8,57	40,00	8,57	7,23

Observação diferente é atribuída à celulose. Com massa semelhante à FAT e Pectina 2, sua capacidade antioxidante após a digestão foi superior a essas duas amostras, sugerindo que a celulose adsorveu mais polifenóis. No entanto, apenas pela observação de C3G e AE livres nos filtrados pós-digestão não foi possível essa observação. Conforme discutido anteriormente, embora estatisticamente não diferente do conteúdo de polifenóis do controle de extrato, os conteúdos de C3G e AE foram superiores nos filtrados de celulose. A maior capacidade antioxidante observada nessa fibra sugere, portanto, que a celulose pode ter contribuído para a preservação dos polifenóis por adsorção, enquanto no controle sem fibra, eles foram degradados ou metabolizados. Essa observação está de acordo com estudos em que foram identificadas interações de polifenóis e celulose, como o de Phan *et al.* (2015), no qual foi observada a interação de celulose com C3G (principalmente), ácido gálico e ácido ferúlico. A ligação de celulose com epicatequina também foi registrada por Liu *et al.* (2017). Apesar de nem todos esses compostos terem sido investigados no presente trabalho, estudos anteriores reportaram a presença de ácido gálico, ácido ferúlico e epicatequina em cascas de jabuticaba (NEVES *et al.*, 2021; QUATRIN *et al.*, 2019). Portanto, apesar de presentes em

menores quantidades que C3G e AE, outros polifenóis podem ter sido adsorvidos e contribuído para a capacidade antioxidante medida nas fibras.

A adsorção de polifenóis não investigados neste estudo pode ter ocorrido não só pela celulose, mas também por FAT e pectina. Flavan-3-ols de casca de uva vermelha foram identificados ligados à hemicelulose (xiloglucana e mananas) e às porções ramnogalacturonanas e homogalacturonanas de pectinas (QUIJADA-MORÍN *et al.*, 2015); e ácido ferúlico foi adsorvido em pectinas ricas em arabinana (ZHANG *et al.*, 2017).

O comportamento de proteção dos polifenóis pelas fibras por meio da adsorção também pode ter ocorrido em FAT e pectina. Como discutido anteriormente, é possível que C3G livre dos extratos de FCJ tenha se ligado às fibras, sendo protegida do ataque pela água, que converteria os íons flavílios à pseudobase carbinol; e, posteriormente, se despreendeu, em parte ou o todo, com a redução do pH para interrupção da atividade enzimática.

Outro possível mecanismo que pode ter ocorrido é o da regeneração dos antioxidantes ligados às partes insolúveis da matriz pelos compostos antioxidantes solúveis, como proposto por Çelik, Gökmen e Fogliano (2013) e Çelik e Gökmen (2014). Nesses estudos, os autores observaram que quando antioxidantes quimicamente ligados à fibra alimentar estão na forma radical, eles podem ser regenerados rapidamente por antioxidantes sinérgicos que estiverem disponíveis, constituindo com eles um vínculo covalente ou tornando-se eles próprios radicais. Dessa forma, é possível que antioxidantes dos extratos de FCJ tenham se ligado covalentemente a NEPP presentes nas fibras de FCJ, aumentando a capacidade antioxidante dessas, e também, que tenham doado elétron ou átomo de hidrogênio para os NEPP, mantendo parte da capacidade antioxidante das fibras, e tornado-se radicais. Os dois mecanismos podem ter ocorrido. Como a celulose comercial não tinha NEPP, antioxidantes do extrato não se tornariam radicais por regenerar compostos da matriz, o que pode ajudar a explicar a maior capacidade antioxidante da celulose pós-digestão. O mesmo pode ter ocorrido no estudo de Lin, Fischer e Wicker (2016), que atribuíram a menor adsorção de C3G por uma pectina extraída de mirtilo à alta quantidade de antocianinas endógenas na fibra, diferentemente da adsorção maior em uma pectina sem essa característica. Essas observações ressaltam a importância de se avaliar a adsorção não apenas pelo conteúdo de compostos livres na solução, mas também pela presença deles no material adsorvente.

De acordo com Jakobek e Matic (2019), as interações entre polifenóis e polissacarídeos ocorrem principalmente por ligações não covalentes, que incluem ligações de

hidrogênio, forças de van der Waals e interações hidrofóbicas. As ligações de hidrogênio ocorrem devido à presença de muitos grupos OH tanto nos polifenóis quanto nas fibras alimentares. As forças de Van der Waals são possíveis, porque os polifenóis e as fibras têm grupos funcionais que podem criar moléculas polarizadas. Uma vez que as ligações de hidrogênio ocorrem, a distância entre o polifenol e as moléculas de fibra alimentar se torna mais curta e permite as interações de Van der Waals. Fibras alimentares e polifenóis não solúveis em água podem se agregar (interações hidrofóbicas) para ter o mínimo contato possível com a água, devido à menor energia de superfície criada quando moléculas insolúveis se agregam nas redondezas da água. As interações hidrofóbicas são, ainda, possíveis, porque os polifenóis têm anéis aromáticos hidrofóbicos que os suportam (BERMÚDEZ-ORIA *et al.*, 2019; JAKOBEK & MATIĆ, 2019; PHAN *et al.*, 2015).

Condições ambientais como pH, temperatura e força iônica interferem nessas interações. O pH influencia a estabilidade dos polifenóis (como já discutido); as moléculas de fibra alimentar (devido à alteração na proporção de grupos funcionais desprotonados/protonados, que afeta forças de repulsão e atração); e por consequência, influencia as interações dos polifenóis com as fibras. Já foi observado, por exemplo, que C3G é mais adsorvida em celulose em pH 5 e ácido ferúlico, em pH 5,5 (JAKOBEK & MATIĆ, 2019; PHAN; D'ARCY; GIDLEY, 2016). Essa é uma consideração importante, visto que ocorre alteração de pH no trato digestivo. A temperatura normal no trato digestivo é próximo de 37 °C, em torno da qual o ácido ferúlico foi mais adsorvido por pectina; mas em celulose, a adsorção de ácido ferúlico foi melhor a 20 °C e a de C3G, a 4 °C (PHAN; D'ARCY; GIDLEY, 2016; ZHANG *et al.*, 2017). Em relação à força iônica, foi observado que os polifenóis adsorvem melhor em diferentes concentrações de cloreto de sódio, sendo que C3G foi mais adsorvida na ausência do sal e o ácido ferúlico, com cloreto de sódio a 33 mM (PHAN *et al.*, 2016). Essa também é uma importante observação, visto que cloreto de sódio foi usado para simulação de fluido gástrico, além da possibilidade de sua formação pelo uso de ácido clorídrico e hidróxido de sódio para acerto de pH.

A estrutura da fibra também interfere na adsorção dos compostos. Neste estudo foi usada uma pectina que se assemelha àquela naturalmente presente na FCJ, para observar como os polifenóis da casca de jabuticaba se comportam com suas fibras. No entanto, Koh, Xu e Wicker, (2020b) observaram que a pectina mais ramificada reteve menos antocianinas que a pectina mais linear, atribuindo isso à diferença de carga, uma vez que a estrutura linear, com carga mais negativa, facilitaria a ligação com a forma flavílio carregado positivamente.

Lin, Fischer e Wicker (2016) também comenta a respeito dessa interação iônica, explicando que abaixo do pKa da pectina (em torno de 3,5–4), os grupos carboxila livres são principalmente protonados a pH 2 e, quanto menor o grau de esterificação da pectina, mais grupos carboxila estarão disponíveis para ligação com os cátions de antocianina. Essa observação é importante uma vez que a etapa de digestão gástrica é feita em pH 2 e a pectina de FCJ utilizada apresentou baixo grau de metil esterificação (44,65%, conforme Capítulo 3). Já com o aumento do pH, a base quinoide das antocianinas fica mais presente e, conforme destaca Lin, Fischer e Wicker (2016), essa forma tem os três anéis aromáticos no mesmo plano, o que facilita o empilhamento de antocianinas livres em antocianinas ligadas, uma outra forma de interação que pode ter ocorrido no ensaio de adsorção.

Estudos futuros são necessários para investigar a cinética de ligação dos polifenóis de FCJ às suas fibras alimentares. Foi observado neste estudo que a quantidade de pectina afetou a adsorção. No entanto, é necessário elucidar melhor essa observação com testes usando maior número de concentrações e fazendo o mesmo para as outras frações de fibras. Também é importante variar a concentração dos adsorvatos (polifenóis). Tudo isso é importante, porque como já demonstrado em capítulo anterior desta tese (Capítulo 1), há grande variação na quantidade de polifenóis e fibras alimentares entre amostras de cascas de jabuticaba. Outra investigação necessária é a influência do tamanho das partículas.

#### **4 CONCLUSÕES**

O método desenvolvido neste trabalho permitiu concluir que os polifenóis livres da farinha de casca de jabuticaba interagem com a fibra alimentar total e a pectina extraídas da própria farinha de casca de jabuticaba, bem como com a celulose comercial.

O conteúdo de C3G livre diminuiu após a digestão simulada, ao passo que AE aumentou, devido à liberação e despolimerização de elagitaninos das fibras. Apenas pela observação dos polifenóis livres, dir-se-ia que apenas a FAT adsorveu C3G e liberou elagitaninos (que foram despolimerizados a ácido elágico), depois de descontados os conteúdos por ela liberados. No entanto, pela análise direta da capacidade antioxidante das fibras, foi possível observar que todas elas adsorveram polifenóis. E que a celulose comercial parece ser a fibra que mais interagiu. Os resultados ainda sugerem que todas as fibras parecem

ter protegido parte dos polifenóis de degradação, assim como polifenóis livres podem também ter regenerado antioxidantes ligados às fibras. A análise conjunta da capacidade antioxidante das fibras alimentares pelo método QUENCHER e a quantificação dos polifenóis livres por HPLC foi importante para a observação desse complexo sistema de interação entre polifenóis e fibras alimentares.

Na proporção em que a pectina foi encontrada na farinha de casca de jabuticaba utilizada, os resultados sugerem que ela não influencia no conteúdo de polifenóis livres após digestão simulada, embora fique com mais sítios de ligação ocupados pelos polifenóis. A presença de antioxidantes nas fibras tem importância do ponto de vista nutricional, uma vez que serão carregados e metabolizados no cólon, onde poderão ser absorvidos ou atuar localmente.

O presente estudo contribuiu para mostrar que o uso de farinhas de casca de jabuticaba pode ser mais benéfico que o uso apenas do extrato de seus polifenóis, visto os resultados sugerirem um sinergismo entre fibras alimentares e antioxidantes, de modo que as fibras podem se entendidas como encapsuladores naturais de polifenóis, protegendo-os da degradação. Esses dados corroboram com observações experimentais e clínica sobre os benefícios do uso de cascas de jabuticaba e que eram contrastados pelas análises de biodisponibilidade.

A cinética de ligação e a influência do tamanho das partículas ainda precisam ser investigadas. Conhecer os fatores dietéticos que modulam a bioacessibilidade dos polifenóis é importante para a elaboração de recomendações alimentares.

## CONCLUSÕES GERAIS

A caracterização de farinhas de casca de jabuticaba de 28 lotes de diferentes origens demonstrou a alta variabilidade de cascas de jabuticaba disponíveis para o consumo. Por análises de componentes principais foi identificado que as farinhas se diferenciam principalmente quanto ao estágio de maturação dos frutos, mesmo com todos colhidos maduros. Devido à combinação de fibra alimentar solúvel e proantocianidinas, as farinhas de casca de jabuticaba apresentaram vantagem de uso em relação a produtos similares.

Cianidina-3-glicosídeo foi o polifenol quantificado em maior quantidade nas farinhas de casca de jabuticaba, seguido por ácido elágico e delphinidina-3-glicosídeo. Pela análise de PCA identificou-se uma diferenciação secundária (22,55%) entre as farinhas produzidas com casca de jabuticabas oriundas da região Metropolitana de Belo Horizonte daquelas feitas a partir de frutas das regiões mineiras Central e Campos das Vertentes, que tendem a possuir mais ácido elágico e a serem mais claras.

Modelos quimiométricos PLS, baseados em dados de FITR, foram capazes de fornecer previsões satisfatórias dos conteúdos de fenólicos totais extraíveis, antocianinas monoméricas totais, cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo, ácido elágico e fibras alimentares solúveis e insolúveis, semelhantes aos métodos convencionais.

As cascas de jabuticaba são fonte potencial e natural de pectina com bom desempenho emulsificante e volume de intumescimento, além de fonte de antioxidantes. A combinação de ultrassom mais aquecimento por micro-ondas, com ou sem enzimas, ou banho-maria a baixa temperatura, permitiu a extração de pectinas com estruturas menos modificadas em relação a como é a pectina na parede vegetal das cascas de jabuticaba.

Após digestão da farinha de casca de jabuticaba, há redução do conteúdo de cianidina-3-glicosídeo livre e aumento de ácido elágico livre. Polifenóis livres da farinha de casca de jabuticaba interagem com a fibra alimentar total e a pectina extraídas da própria farinha e, principalmente, com a celulose comercial. Na proporção em que a pectina foi encontrada na farinha de casca de jabuticaba utilizada, os resultados sugerem que ela não influencia no conteúdo de polifenóis livres após a digestão simulada, mas, assim como as outras porções de fibra, carrega polifenóis para o cólon.

Contudo, conclui-se que, embora as cascas de jabuticaba apresentem variações significativas de composição, seu consumo deve ser estimulado por ser boa fonte de fibras alimentares e compostos antioxidantes, que têm uma relação de sinergismo, que é favorável para evitar a degradação dos antioxidantes e contribuir para a saúde intestinal. As farinhas de casca de jabuticaba são uma ótima estratégia para aproveitamento, conservação e aplicação desse resíduo agroalimentar.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, Bianca R.; PEREIRA, Carla; CALHELHA, Ricardo C.; JOSÉ ALVES, Maria; ABREU, Rui M. V.; BARROS, Lillian; OLIVEIRA, M. Beatriz P. P.; FERREIRA, Isabel C. F. R. Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 309, n. October 2019, p. 125735, 2020. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125735. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125735>.

ALEZANDRO, Marcela Roquim; DUBÉ, Pascal; DESJARDINS, Yves; LAJOLO, Franco Maria; GENOVESE, Maria Inés. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, [S. l.], v. 54, n. 1, p. 468–477, 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.018>.

ALEZANDRO, Marcela Roquim; GRANATO, Daniel; GENOVESE, Maria Inés. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. **Food Research International**, [S. l.], v. 54, n. 1, p. 650–659, 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.041. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.041>.

ALTAMIMI, Jozaa Z.; ALFARIS, Nora A.; ALSHAMMARI, Ghedeir M.; ALAGAL, Reham I.; ALJABRYN, Dalal H.; ALDERA, Hussain; ALRFAEI, Bahauddeen M.; ALKHATEEB, Mahmoud A.; YAHYA, Mohammed A. Ellagic acid protects against diabetic nephropathy in rats by regulating the transcription and activity of Nrf2. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 79, p. 104397, 2021. DOI: 10.1016/J.JFF.2021.104397.

AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th. ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC INTERNATIONAL, 2012.

ASP, Nils G.; JOHANSSON, Claes G.; HALLMER, Hákan; SILJESTRÓM, Monica. Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 476–482, 1983. DOI: 10.1021/jf00117a003.

AYALA-ZAVALA, J. F.; VEGA-VEGA, V.; ROSAS-DOMÍNGUEZ, C.; PALAFOX-CARLOS, H.; VILLA-RODRIGUEZ, J. A.; SIDDIQUI, Md Wasim; DÁVILA-AVIÑA, J. E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, n. 7, p. 1866–1874, 2011. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.02.021. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>.

BALDIN, Juliana Cristina et al. Microencapsulated jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. **Meat Science**, [S. l.], v. 118, p. 15–21, 2016. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.03.016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.016>.

BALTACIOĞLU, Hande; BALTACIOĞLU, Cem; OKUR, İlhami; TANRIVERMIŞ, Arif; YALIÇ, Muharrem. Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds from tomato: Characterization by FTIR and HPLC and comparison with conventional solvent extraction. **Vibrational Spectroscopy**, [S. l.], v. 113, 2021. DOI: 10.1016/j.vibspec.2020.103204.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007.

BARROS, Helena D. F. Q.; BASEGGIO, Andressa M.; ANGOLINI, Célio F. F.; PASTORE, Gláucia M.; CAZARIN, Cinthia B. B.; MAROSTICA-JUNIOR, Mario R. Influence of different types of acids and pH in the recovery of bioactive compounds in Jaboticaba peel (*Plinia cauliflora*). **Food Research International**, [S. l.], v. 124, n. December 2018, p. 16–26, 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.01.010.

BASALEKOU, Marianthi; KALLITHRAKA, Stamatina; TARANTILIS, Petros A.; KOTSERIDIS, Yiorgos; PAPPAS, Christos. Ellagitannins in wines: Future prospects in methods of analysis using FT-IR spectroscopy. **LWT**, [S. l.], v. 101, p. 48–53, 2019. DOI: 10.1016/J.LWT.2018.11.017.

BATISTA, Ângela G. et al. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 450–461, 2014. DOI: 10.1016/j.jff.2013.11.011.

BATISTA, Ângela G.; SOARES, Edilene S.; MENDONÇA, Monique C. P.; DA SILVA, Juliana K.; DIONÍSIO, Ana Paula; SARTORI, Cesar R.; DA CRUZ-HÖFLING, Maria Alice; MARÓSTICA JÚNIOR, Mário R. Jaboticaba berry peel intake prevents insulin-resistance-induced tau phosphorylation in mice. **Molecular Nutrition and Food Research**, [S. l.], v. 61, n. 10, p. 1–10, 2017. DOI: 10.1002/mnfr.201600952.

BATISTA, Ângela Giovana; DA SILVA-MAIA, Juliana Kelly; MENDONÇA, Monique Culturato P.; SOARES, Edilene Siqueira; LIMA, Gláucia Carielo; BOGUSZ JUNIOR,

Stanislau; DA CRUZ-HÖFLING, Maria Alice; MARÓSTICA JÚNIOR, Mário Roberto. Jaboticaba berry peel intake increases short chain fatty acids production and prevent hepatic steatosis in mice fed high-fat diet. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 48, p. 266–274, 2018. DOI: 10.1016/J.JFF.2018.07.020.

BENVENUTTI, Laís; SANCHEZ-CAMARGO, Andrea del P.; ZIELINSKI, Acácio A. F.; FERREIRA, Sandra R. S. NADES as potential solvents for anthocyanin and pectin extraction from *Myrciaria cauliflora* fruit by-product : In silico and experimental approaches for solvent selection. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], v. 315, p. 113761, 2020. DOI: 10.1016/j.molliq.2020.113761. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113761>.

BERMÚDEZ-ORIA, Alejandra; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, Guillermo; FERNÁNDEZ-PRIOR, África; VIOQUE, Blanca; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, Juan. Strawberry dietary fiber functionalized with phenolic antioxidants from olives. Interactions between polysaccharides and phenolic compounds. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 280, p. 310–320, 2019. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2018.12.057.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC 263 de 22 de setembro de 2005. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0263\\_22\\_09\\_2005.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0263_22_09_2005.html)>. Acesso em: 05 dez. 2018.

BUREAU, Sylvie; COZZOLINO, Daniel; CLARK, Christopher J. Contributions of Fourier-transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy to the study of fruit and vegetables: A review. **Postharvest Biology and Technology**, [S. l.], v. 148, n. May 2018, p. 1–14, 2019. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2018.10.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.10.003>.

BURTON-FREEMAN, Britt; LIYANAGE, Dhanesh; RAHMAN, Sajida; EDIRISINGHE, Indika. Ratios of soluble and insoluble dietary fibers on satiety and energy intake in overweight pre- and postmenopausal women1. **Nutrition and Healthy Aging**, [S. l.], v. 4, n. 2, 2017. DOI: 10.3233/NHA-160018.

CALLONI, Caroline; MARTÍNEZ, Luana Soares; GIL, Daniela Franciele; DA SILVA, Douglas Machado; ROSALES, Pauline Fagundes; AGOSTINI, Fabiana; MOURA E SILVA, Sidnei; PARMEGIANI JAHN, Matheus; SALVADOR, Mirian. Jaboticaba (*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel) improved the lipid profile and immune system and reduced oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Food Biochemistry**, [S. l.], v. 44, n. 9, p. 1–12, 2020. DOI: 10.1111/jfbc.13383.

CASTAÑEDA-OVANDO, Araceli; PACHECO-HERNÁNDEZ, Ma. de Lourdes; PÁEZ-HERNÁNDEZ, Ma. Elena; RODRÍGUEZ, José A.; GALÁN-VIDAL, Carlos Andrés. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001.

ÇELİK, Ecem Evrim; GÖKMEN, Vural. Investigation of the interaction between soluble antioxidants in green tea and insoluble dietary fiber bound antioxidants. **Food Research International**, [S. l.], v. 63, p. 266–270, 2014. DOI: 10.1016/J.FOODRES.2014.02.026.

ÇELİK, Ecem Evrim; GÖKMEN, Vural; FOGLIANO, Vincenzo. Soluble Antioxidant Compounds Regenerate the Antioxidants Bound to Insoluble Parts of Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 61, n. 43, 2013. DOI: 10.1021/jf402523k.

CHAN, Siew Y.; CHOO, Wee S.; YOUNG, David J.; LOH, Xian J. Pectin as a rheology modifier : Origin , structure , commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 161, p. 118–139, 2017. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.12.033. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.033>.

CHEN, Jianle; CHENG, Huan; ZHI, Zijian; ZHANG, Hua; LINHARDT, Robert J.; ZHANG, Fuming; CHEN, Shiguo; YE, Xingqian. Extraction temperature is a decisive factor for the properties of pectin. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 112, n. June 2020, p. 106160, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106160. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106160>.

CHO, Hyunnho; YU, Ki Seon; HWANG, Keum Taek. Effect of ellagic acid incorporation on the oxidative stability of sodium caseinate-polysaccharide-stabilized emulsions. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 84, p. 601–607, 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.06.029. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.029>.

CHOONG, Yew-Keong; MOHD YOUSOF, Nor Syaidatul Akmal; JAMAL, Jamia Azdina; ISA WASIMAN, Mohd. Determination of anthocyanin content in two varieties of *Hibiscus Sabdariffa* from Selangor, Malaysia using a combination of chromatography and spectroscopy. **Journal of Plant Science and Phytopathology**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 067–075, 2019. DOI: 10.29328/journal.jpssp.1001034.

CHYLIŃSKA, Monika; SZYMAŃSKA-CHARGOT, Monika; KRUK, Beata; ZDUNEK, Artur. Study on dietary fibre by Fourier transform-infrared spectroscopy and chemometric methods **Food Chemistry**, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.029.

CODEX ALIMENTARIUS. Report of the 30th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. Cape Town, South Africa. **Anais** [...]. Cape Town, South Africa, 3-7 November, 2008.

CODEX ALIMENTARIUS. Report of the 31st Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. Düsseldorf, Germany. **Anais** [...]. Düsseldorf, Germany, 2-6 November, 2009.

**CONAB**. Apresenta informações sobre a Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <<http://dw.prohort.conab.gov.br/pentaho/Prohort>>. Acesso em: 01 jun. 2017.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fenneman**. 4 ed. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

DE SÁ, Luísa Z. C. Martin. et al. Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jaboticaba berry (*Myrciaria jaboticaba*). **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 169–179, 2014. DOI: 10.1016/J.JFF.2014.03.009.

DEUS, Valterney L.; RESENDE, Laís M.; BISPO, Eliete S.; FRANCA, Adriana S.; BEATRIZ, Maria; GLORIA, A. FTIR and PLS-regression in the evaluation of bioactive amines , total phenolic compounds and antioxidant potential of dark chocolates. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 357, n. January, p. 129754, 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129754. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129754>.

DHINGRA, Devinder; MICHAEL, Mona; RAJPUT, Hradesh; PATIL, R. T. Dietary fibre in foods: A review. **Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 255–266, 2012. DOI: 10.1007/s13197-011-0365-5.

DIXON, Richard A.; SARNALA, Sai. Proanthocyanidin Biosynthesis—a Matter of Protection. **Plant Physiology**, [S. l.], v. 184, n. 2, p. 579–591, 2020. DOI: 10.1104/pp.20.00973.

DOMÍNGUEZ-RODRÍGUEZ, Gloria; MARINA, María Luisa; PLAZA, Merichel. Strategies for the extraction and analysis of non-extractable polyphenols from plants. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1514, p. 1–15, 2017. DOI: 10.1016/J.CHROMA.2017.07.066.

DOMINIÁK, Malgorzata; SØNDERGAARD, Karen M.; WICHMANN, Jesper; VIDAL-

MELGOSA, Silvia; WILLATS, William G. T.; MEYER, Anne S.; MIKKELSEN, Jørn D. Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 40, 2014. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.03.009.

DRANCA, Florina; OROIAN, Mircea. Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. **Food Research International**, [S. l.], v. 113, n. June, p. 327–350, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.06.065. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.065>.

DRANCA, Florina; TALÓN, Emma; VARGAS, María; OROIAN, Mircea. Microwave vs. conventional extraction of pectin from *Malus domestica* ‘Fălticeni’ pomace and its potential use in hydrocolloid-based films. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 121, p. 107026, 2021. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2021.107026.

ELVIRA-TORALES, Laura Inés; GARCÍA-ALONSO, Javier; PERIAGO-CASTÓN, María Jesús. Nutritional Importance of Carotenoids and Their Effect on Liver Health: A Review. **Antioxidants**, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 229, 2019. DOI: 10.3390/antiox8070229.

ENCALADA, Alondra M. I.; PÉREZ, Carolina D.; FLORES, Silvia K.; ROSSETTI, Luciana; FISSORE, Eliana N.; ROJAS, Ana M. Antioxidant pectin enriched fractions obtained from discarded carrots (*Daucus carota* L.) by ultrasound-enzyme assisted extraction. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 289, n. October 2018, p. 453–460, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.03.078. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.078>.

EVERETTE, Jace D.; BRYANT, Quinton M.; GREEN, Ashlee M.; ABBEY, Yvonne A.; WANGILA, Grant W.; WALKER, Richard B. A thorough study of reactivity of various compound classes towards the Folin-Ciocalteu. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 58, n. 14, p. 8139–8144, 2014. DOI: 10.1021/jf1005935.A.

FERNANDES, Ana; OLIVEIRA, Joana; FONSECA, Fátima; FERREIRA-DA-SILVA, Frederico; MATEUS, Nuno; VINCKEN, Jean Paul; DE FREITAS, Victor. Molecular binding between anthocyanins and pectic polysaccharides – Unveiling the role of pectic polysaccharides structure. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 102, n. September 2019, 2020. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105625.

FERNANDES, Iva; FARIA, Ana; CALHAU, Conceição; DE FREITAS, Victor; MATEUS, Nuno. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 54–66, 2014. DOI: 10.1016/J.JFF.2013.05.010.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria – Conceitos, métodos e Aplicações**. Campinas, São Paulo: Editora da Unicamp, 2015.

FERREIRA, Patricia Rodrigues; MARINS, João Carlos Bouzas; DE OLIVEIRA, Leandro Licursi; BASTOS, Daniel Silva Sena; SOARES JÚNIOR, Duílio Teixeira; DA SILVA, Cristiano Diniz; FONTES, Edimar Aparecida Filomeno. Beverage based on whey permeate with phenolic extract of jabuticaba peel: A pilot study on effects on muscle and oxidative stress in trained individuals. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 65, p. 103749, 2020. DOI: 10.1016/J.JFF.2019.103749.

**FLORA do Brasil**. Desenvolvido por COPPETEC-UFRJ. Apresenta um catálogo de plantas do Brasil. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do#CondiacaoTaxonCP>. Acesso em: 02 jun. 2016.

FRACASSETTI, Daniela; COSTA, Carlos; MOULAY, Leila; TOMÁS-BARBERÁN, Francisco A. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, [S. l.], v. 139, n. 1–4, p. 578–588, 2013. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.01.121. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.121>.

FRANCA, Adriana S.; NOLLET, Leo. **Spectroscopic Methods in Food Analysis**. 1. ed. [s.l.] : Ed. Boca Raton: CRC Press, 2017.

GALANAKIS, Charis M. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 68–87, 2012. DOI: 10.1016/j.tifs.2012.03.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.003>.

GHOSHAL, Gargi; NEGI, Pooja. Isolation of pectin from kinnow peels and its characterization. **Food and Bioprocess Processing**, [S. l.], v. 124, p. 342–353, 2020. DOI: 10.1016/j.fbp.2020.09.008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.09.008>.

GIUSTI, M. Monica; WROLSTAD, Ronald E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001. p. F1.2.1-F1.2.13.

GÖKMEN, Vural; SERPEN, Arda; FOGLIANO, Vincenzo. Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the “QUENCHER” approach. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 20, n. 6–7, p. 278–288, 2009. DOI: 10.1016/j.tifs.2009.03.010.

GOÑI, Isabel; DÍAZ-RUBIO, M. Elena; PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. **Food Research International**, [S. l.], v. 42, n. 7, 2009. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.03.010.

GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Desenvolvido pela PRODEMGE - Companhia de Tecnologia da Informação do Estado de Minas Gerais. Disponível em: [https://www.mg.gov.br/sites/default/files/paginas/arquivos/2016/ligminas\\_10\\_2\\_04\\_listameso\\_micro.pdf](https://www.mg.gov.br/sites/default/files/paginas/arquivos/2016/ligminas_10_2_04_listameso_micro.pdf). Acesso em: 02 ago. 2021.

GRANATO, Daniel; SANTOS, Jânio S.; ESCHER, Graziela B.; FERREIRA, Bruno L.; MAGGIO, Rubén M. Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. **Trends in Food Science & Technology**, [S. l.], v. 72, 2018. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.12.006.

GURAK, Poliana Deyse; DE BONA, Gicele Sbardelotto; TESSARO, Isabel Cristina; MARCZAK, Ligia Damasceno Ferreira. Jaboticaba pomace powder obtained as a co-product of juice extraction: A comparative study of powder obtained from peel and whole fruit. **Food Research International**, [S. l.], v. 62, p. 786–792, 2014. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.04.042. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.042>.

HAN, Fuliang; YANG, Ping; WANG, Hua; FERNANDES, Iva; MATEUS, Nuno; LIU, Yangjie. Digestion and absorption of red grape and wine anthocyanins through the gastrointestinal tract. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 83, n. November 2018, p. 211–224, 2019. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.11.025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.025>.

HE, Jian; GIUSTI, M. Monica. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. **Review in Advance on Annu. Rev. Food Sci. Technol**, [S. l.], v. 1, p. 163–187, 2010. DOI: 10.1146/annurev.food.080708.100754. Disponível em: [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org).

HOTCHKISS JR., Arland T. et al. Structure and composition of blueberry fiber pectin and xyloglucan that bind anthocyanins during fruit puree processing. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 116, n. October 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106572.

HU, Yaxi; PAN, Zhi Jie; LIAO, Wen; LI, Jiaqi; GRUGET, Pierre; KITTS, David D.; LU, Xiaonan. Determination of antioxidant capacity and phenolic content of chocolate by attenuated total reflectance-Fourier transformed-infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 202, p. 254–261, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.130.

HUANG, Jia yi; LIAO, Jin song; QI, Jun ru; JIANG, Wen xin; YANG, Xiao quan. Structural and physicochemical properties of pectin-rich dietary fiber prepared from citrus peel. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 110, n. June 2020, p. 106140, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106140. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106140>.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2017). Censo Agropecuário. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6616#resultado>. Acesso em: 04 ago. 2019.

INADA, Kim Ohanna Pimenta et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 17, p. 422–433, 2015. DOI: 10.1016/j.jff.2015.06.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>.

INADA, Kim Ohanna Pimenta; SILVA, Tamirys Barcellos Revorêdo; LOBO, Leandro Araújo; DOMINGUES, Regina Maria Cavalcante Pilotto; PERRONE, Daniel; MONTEIRO, Mariana. Bioaccessibility of phenolic compounds of jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) peel and seed after simulated gastrointestinal digestion and gut microbiota fermentation. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 67, n. November 2019, p. 103851, 2020. DOI: 10.1016/j.jff.2020.103851. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103851>.

INADA, Kim Ohanna Pimenta; TOMÁS-BARBERÁN, Francisco A.; PERRONE, Daniel; MONTEIRO, Mariana. Metabolism of ellagitannins from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) in normoweight, overweight and obese Brazilians: Unexpected laxative effects influence urolithins urinary excretion and metabotype distribution. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 57, 2019. DOI: 10.1016/j.jff.2019.04.025.

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology – the Gold Book. Disponível em: <http://goldbook.iupac.org/html/C/CT06948.html>. Acesso em: 26 mar. 2019.

JAKOBEK, Lidija; MATIĆ, Petra. Non-covalent dietary fiber - Polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 83, n. October 2018, p. 235–247, 2019. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.11.024.

JIANG, Yang; XU, Yuhua; LI, Feng; LI, Dapeng; HUANG, Qingrong. Pectin extracted from persimmon peel : A physicochemical characterization and emulsifying properties evaluation. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 101, n. September 2019, p. 105561, 2020. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105561. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105561>.

JOHNSON, Joel; MANI, Janice; ASHWATH, Nanjappa; NAIKER, Mani. Potential for Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy toward predicting antioxidant and phenolic contents in powdered plant matrices. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S. l.], v. 233, 2020. DOI: 10.1016/j.saa.2020.118228.

KACURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; SASINKOVÁ, V.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 195–203, 2000. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00151-X.

KANNAN, M. Mari; QUINE, S. Darlin. Ellagic acid inhibits cardiac arrhythmias, hypertrophy and hyperlipidaemia during myocardial infarction in rats. **Metabolism**, [S. l.], v. 62, n. 1, p. 52–61, 2013. DOI: 10.1016/J.METABOL.2012.06.003.

KOH, Jeewon; XU, Zhimin; WICKER, Louise. Blueberry pectin and increased anthocyanins stability under in vitro digestion. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 302, p. 125343, 2020. a. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2019.125343.

KOH, Jeewon; XU, Zhimin; WICKER, Louise. Binding kinetics of blueberry pectin-anthocyanins and stabilization by non-covalent interactions. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 99, p. 105354, 2020. b. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2019.105354.

KUMAR, Manoj; TOMAR, Maharishi; SAURABH, Vivek; MAHAJAN, Tushar; PUNIA, Sneha; CONTRERAS, Maria del M.; RUDRA, Shalini G.; KAUR, Charanjit; KENNEDY, John F. Emerging trends in pectin extraction and its anti-microbial functionalization using natural bioactives for application in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, [S. l.], v. 105, n. August, p. 223–237, 2020. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.09.009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.009>.

KURITA, Osamu; FUJIWARA, Takayuki; YAMAZAKI, Eiji. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 74, p. 725–730, 2008. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.04.033.

KYOMUGASHO, Clare; CHRISTIAENS, Stefanie; SHPIGELMAN, Avi; LOEY, Ann M. Van; HENDRICKX, Marc E. FT-IR spectroscopy, a reliable method for routine analysis of the degree of methylesterification of pectin in different fruit- and vegetable-based matrices. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 176, p. 82–90, 2015. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.12.033.

LAMAS, C. A. et al. Jaboticaba extract prevents prediabetes and liver steatosis in high-fat-fed aging mice. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 47, n. July 2017, p. 434–446, 2018. DOI: 10.1016/j.jff.2018.06.005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.005>.

LAMAS, Celina A.; KIDO, Larissa A.; HERMES, Túlio A.; NOGUEIRA-LIMA, Ellen; MINATEL, Elaine; COLLARES-BUZATO, Carla B.; MARÓSTICA JR, Mário R.; CAGNON, Valéria H. A. Brazilian berry extract (*Myrciaria jaboticaba*): A promising therapy to minimize prostatic inflammation and oxidative stress. **Prostate**, [S. l.], v. 80, n. 11, p. 859–871, 2020. DOI: 10.1002/pros.24017.

LE DONNE, Maria; LENTINI, Maria; ALIBRANDI, Angela; SALIMBENI, Vincenzino; GIUFFRÉ, Giuseppe; MAZZEO, Francesca; TRIOLO, Onofrio; D'ANNA, Rosario. Antiviral activity of Ellagic acid and Annona Muricata in cervical HPV related pre-neoplastic lesions: A randomized trial. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 35, p. 549–554, 2017. DOI: 10.1016/J.JFF.2017.06.006.

LEÃO, Daniela P.; BOTELHO, Bruno G.; OLIVEIRA, Leandro S.; FRANCA, Adriana S. Potential of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peels as sources of highly esterified pectins obtained by microwave assisted extraction. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 87, p. 575–580, 2018. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.09.037.

LEÃO, Daniela P.; FRANCA, Adriana S.; OLIVEIRA, Leandro S.; BASTOS, Rita; COIMBRA, Manuel A. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 225, p. 146–153, 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.01.027.

LEE, Heon Joong; SUH, Dong Ho; JUNG, Eun Sung; PARK, Hye Min; JUNG, Ga Young; DO, Seon Gil; LEE, Choong Hwan. Metabolomics of *Lonicera caerulea* fruit during ripening and its relationship with color and antioxidant activity. **Food Research International**, [S. l.], v. 78, p. 343–351, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.09.017.

LEITE-LEGATTI, Alice Vieira et al. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, [S. l.], v. 49, n. 1, p. 596–603, 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.07.044.

LENQUISTE, Sabrina Alves; DE ALMEIDA LAMAS, Celina; DA SILVA MARINELI, Rafaela; MORAES, Érica Aguiar; BORCK, Patrícia Cristine; CAMARGO, Rafael Ludemann; QUITETE, Valéria Helena Alves Cagnon; CARNEIRO, Everardo Magalhães; JUNIOR, Mário Roberto Maróstica. Jaboticaba peel powder and jaboticaba peel aqueous extract reduces obesity, insulin resistance and hepatic fat accumulation in rats. **Food Research International**, [S. l.], v. 120, p. 880–887, 2019. DOI: 10.1016/J.FOODRES.2018.11.053.

LENQUISTE, Sabrina Alves; MARINELI, Rafaela da Silva; MORAES, Érica Aguiar; DIONÍSIO, Ana Paula; BRITO, Edy Sousa De; MARÓSTICA, Mário Roberto. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model. **Food Research International**, [S. l.], v. 77, p. 162–170, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>.

LI, Xueli; HE, Xiuli; LV, Yuanping; HE, Qiang. Extraction and functional properties of water-soluble dietary fiber from apple pomace. **Journal of Food Process Engineering**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 293–298, 2014. DOI: 10.1111/jfpe.12085.

LICHTENTHALER, Hartmut K.; BUSCHMANN, Claus. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001. p. F4.3.1-F4.3.8.

LIEW, Shan Qin; NGOH, Gek Cheng; YUSOFF, Rozita; TEOH, Wen Hui. Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction ( UMAE ) of pectin from pomelo peels. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 93, p. 426–435, 2016. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.08.065. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.065>.

LIMA, Anete J. B.; CORRÊA, Angelita Duarte; ALVES, Ana P. C.; ABREU, Celeste M. P.; DANTAS-BARROS, Ana M. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, [S. l.], v. 58, n. 2, p. 416–421, 2008.

LIN, Z.; FISCHER, J.; WICKER, L. Intermolecular binding of blueberry pectin-rich fractions and anthocyanin. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 194, p. 986–993, 2016. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2015.08.113.

LIN, Zeng; LIN, Chen; FU, Changchang; LU, Hongwei; JIN, Haidong; CHEN, Qin; PAN, Jun. The protective effect of Ellagic acid (EA) in osteoarthritis: An in vitro and in vivo study. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 125, n. November 2019, 2020. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.109845.

LIU, Dongjie; MARTINEZ-SANZ, Marta; LOPEZ-SANCHEZ, Patricia; GILBERT, Elliot P.; GIDLEY, Michael J. Adsorption behaviour of polyphenols on cellulose is affected by processing history. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 63, p. 496–507, 2017. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2016.09.012.

LIU, Yao; DENG, Guifang; WANG, Xu; LUO, Jing; QIAN, Xiaoyun; LING, Wenhua. Cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside polarizes LPS-induced M1 into M2 Macrophage in J774 cells via PPAR $\gamma$ -mediated NF- $\kappa$ B and STAT6 signaling pathway. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 77, p. 104314, 2021. DOI: 10.1016/j.jff.2020.104314. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104314>.

LÓPEZ-VARGAS, Jairo H.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, Juana; PÉREZ-ÁLVAREZ, José A.; VIUDA-MARTOS, Manuel. Chemical, Physico-chemical, Technological, Antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International**, [S. l.], v. 51, n. 2, p. 756–763, 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.01.055. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.055>.

MACAGNAN, FT; BENDER, ABB; SPERONI, CS. Coffee and its by-products as sources of bioactive compounds. In: SAURA-CALIXTO, F.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J. (org.). **Non-extractable polyphenols and carotenoids: importance in human nutrition and health**. [s.l.] : Royal Society of Chemistry, 2018. p. 17–36.

MAO, Ting; HUANG, Fansu; ZHU, Xuping; WEI, Dong; CHEN, Lianmeng. Effects of dietary fiber on glycemic control and insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 82, p. 104500, 2021. DOI: 10.1016/J.JFF.2021.104500.

MARÇO, Paulo Henrique; POPPI, Ronei Jesus; SCARMINIO, Ieda Spacino. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, [S. l.], v. 31, n. 5, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000500051.

MARIC, Mirela; GRASSINO, Antonela N.; ZHU, Zhenzhou; BARBA, Francisco J.;

BRNCIC, Mladen; BRNCIC, Suzana R. Trends in Food Science & Technology An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products : Ultrasound- , microwaves- , and enzyme-assisted extraction. *[S. l.]*, v. 76, n. January, p. 28–37, 2018. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.03.022.

MARQUES, Tamara Rezende; CORRÊA, Angelita Duarte; LINO, Jéssica Boreli dos Reis; DE ABREU, Celeste Maria Patto; SIMÃO, Anderson Assaid. Chemical constituents and technological functional properties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) waste flour. **Food Science and Technology**, *[S. l.]*, v. 33, n. 3, p. 526–531, 2013. DOI: 10.1590/S0101-20612013005000085.

MATSUKAWA, Toshiya; INAGUMA, Tetsuya; HAN, Junkyu; VILLAREAL, Myra O.; ISODA, Hiroko. Cyanidin-3-glucoside derived from black soybeans ameliorate type 2 diabetes through the induction of differentiation of preadipocytes into smaller and insulin-sensitive adipocytes. **Journal of Nutritional Biochemistry**, *[S. l.]*, v. 26, n. 8, p. 860–867, 2015. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2015.03.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.03.006>.

MELLING, J. M.; THOMPSON, M. Fiber-optic probes for midinfrared spectrometry. *In*: CHALMER, J. M.; GRIFFITHS, P. R. (org.). **Handbook of Vibrational Spectroscopy**. Chichester, UK: Ed. John Wiley&Sons, 2002. Disponível em: [http://www.remspec.com/pdfs/2703\\_o.pdf.%3E](http://www.remspec.com/pdfs/2703_o.pdf.%3E).

MIHANFAR, Aynaz; NOURI, Mohammad; ROSHANGAR, Leila; KHADEM-ANSARI, Mohammad Hassan. Polyphenols: Natural compounds with promising potential in treating polycystic ovary syndrome. **Reproductive Biology**, *[S. l.]*, v. 21, n. 2, p. 100500, 2021. DOI: 10.1016/J.REPBIO.2021.100500.

MIRANDA, Bruna M.; DI-MEDEIROS, Maria C. B.; BATISTA, Karla A.; CARBONERO, Elaine R.; FERNANDES, Kátia F.; SILVA, Flávio A. A galactose-rich heteropolysaccharide extracted from “jaboticaba” (*Plinia cauliflora*) peels. **Carbohydrate Polymers**, *[S. l.]*, v. 249, n. July, p. 116821, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116821. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116821>.

MOHAMMADALINEJHAD, Samira; KUREK, Marcin Andrzej. Microencapsulation of Anthocyanins—Critical Review of Techniques and Wall Materials. **Applied Sciences**, *[S. l.]*, v. 11, n. 9, p. 3936, 2021. DOI: 10.3390/app11093936.

MONTEIRO, Gean Charles; MINATEL, Igor Otavio; JUNIOR, Adilson Pimentel; GOMEZ-GOMEZ, Hector Alonzo; DE CAMARGO, João Pedro Corrêa; DIAMANTE, Marla Silvia;

PEREIRA BASÍLIO, Letícia Silva; TECCHIO, Marco Antonio; PEREIRA LIMA, Giuseppina Pace. Bioactive compounds and antioxidant capacity of grape pomace flours. **LWT**, [S. l.], v. 135, n. August 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110053.

MOURA, Márcio Hércules Caldas; CUNHA, Maria Gabriela; ALEZANDRO, Marcela Roquim; GENOVESE, Maria Inés. Phenolic-rich jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) extracts prevent high-fat-sucrose diet-induced obesity in C57BL/6 mice. **Food Research International**, [S. l.], v. 107, n. July 2017, p. 48–60, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.01.071. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.071>.

MÜLLER-MAATSCH, Judith et al. Pectin content and composition from different food waste streams. [S. l.], v. 201, p. 37–45, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.012.

NACZK, Marian; SHAHIDI, Fereidoon. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1054, n. 1–2, 2004. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.08.059.

NASCIMENTO, Raissa S.; PEDROSA, Lucas F.; DIETHELM, Luiza T. H.; SOUZA, Thales; SHIGA, Tania M.; FABI, João P. The purification of pectin from commercial fruit flours results in a jaboticaba fraction that inhibits galectin-3 and colon cancer cell growth. [S. l.], v. 137, n. June, 2020. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109747.

NEVES, Nathália de A.; STRINGHETA, Paulo C.; SILVA, Isadora, F. da; GARCÍA-ROMERO, Esteban; GÓMEZ-ALONSO, Sergio; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, Isidro. Identification and quantification of phenolic composition from different species of Jaboticaba (*Plinia* spp.) by HPLC-DAD-ESI/MSn. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 355, p. 129605, 2021. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2021.129605.

OH, Im Kyung; BAE, In Young; LEE, Hyeon Gyu. In vitro starch digestion and cake quality: Impact of the ratio of soluble and insoluble dietary fiber. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 63, p. 98–103, 2014. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.038. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.038>.

OLIVEIRA, Ludmilla C.; ALENCAR, Natália M. M.; STEEL, Caroline J. Improvement of sensorial and technological characteristics of extruded breakfast cereals enriched with whole grain wheat flour and jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 90, n. June 2017, p. 207–214, 2018. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.12.017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.017>.

PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; DÍAZ-RUBIO, M. Elena; SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects. **Nutrition Research Reviews**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 118–129, 2013. DOI: 10.1017/S0954422413000097.

PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; TORRES, Josep Lluís. Analysis of nonextractable phenolic compounds in foods: The current state of the art. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 59, n. 24, p. 12713–12724, 2011. DOI: 10.1021/jf203372w.

PHAN, Anh Dao T.; D'ARCY, Bruce R.; GIDLEY, Michael J. Polyphenol-cellulose interactions: effects of pH, temperature and salt. **International Journal of Food Science & Technology**, [S. l.], v. 51, n. 1, 2016. DOI: 10.1111/ijfs.13009.

PHAN, Anh Dao T.; FLANAGAN, Bernadine M.; D'ARCY, Bruce R.; GIDLEY, Michael J. Binding selectivity of dietary polyphenols to different plant cell wall components: Quantification and mechanism. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 233, p. 216–227, 2017. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2017.04.115.

PHAN, Anh Dao T.; NETZEL, Gabriele; WANG, Dongjie; FLANAGAN, Bernadine M.; D'ARCY, Bruce R.; GIDLEY, Michael J. Binding of dietary polyphenols to cellulose: Structural and nutritional aspects. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 171, p. 388–396, 2015. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2014.08.118.

PITZ, Heloisa da S.; PEREIRA, Aline; BLASIUS, Mayara B.; VOYTENA, Ana Paula L.; AFFONSO, Regina C. L.; FANAN, Simone; TREVISAN, Adriana C. D.; RIBEIRO-DO-VALLE, Rosa M.; MARASCHIN, Marcelo. Vitro Evaluation of the Antioxidant Activity and Wound Healing Properties of Jaboticaba (*Plinia peruviana*) Fruit Peel Hydroalcoholic Extract. [S. l.], 2016. DOI: 10.1155/2016/3403586. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3403586>.

PLAZA, Merichel; BATISTA, Ângela Giovana; CAZARIN, Cinthia Baú Betim; SANDAHL, Margareta; TURNER, Charlotta; ÖSTMAN, Elin; MARÓSTICA JÚNIOR, Mário Roberto. Characterization of antioxidant polyphenols from Myrciaria jaboticaba peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 211, p. 185–197, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.04.142. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.142>.

PORTARENA, Silvia; ANSELMINI, Chiara; ZADRA, Claudia; FARINELLI, Daniela; FAMIANI, Franco; BALDACCHINI, Chiara; BRUGNOLI, Enrico. Cultivar discrimination, fatty acid profile and carotenoid characterization of monovarietal olive oils by Raman

spectroscopy at a single glance. **Food Control**, [S. l.], v. 96, n. August 2018, p. 137–145, 2019. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.09.011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.011>.

QI, Shan Shan; HE, Jia; DONG, Le Cheng; YUAN, Li Ping; WU, Jia Le; ZU, Yue Xin; ZHENG, Hong Xing. Cyanidin-3-glucoside from black rice prevents renal dysfunction and renal fibrosis in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 72, p. 104062, 2020. DOI: 10.1016/J.JFF.2020.104062.

QUATRIN, A. et al. Characterization and quantification of tannins, flavonols, anthocyanins and matrix-bound polyphenols from jaboticaba fruit peel: A comparison between *Myrciaria trunciflora* and *M. jaboticaba*. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 78, n. January, p. 59–74, 2019. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.01.018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.01.018>.

QUATRIN, Andréia et al. Bioaccessibility and catabolism of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria trunciflora*) fruit peel during in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 65, p. 103714, 2020. DOI: 10.1016/J.JFF.2019.103714.

QUIDEAU, Stéphane; DEFFIEUX, Denis; DOUAT-CASASSUS, Céline; POUYSÉGU, Laurent. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, [S. l.], v. 50, n. 3, 2011. DOI: 10.1002/anie.201000044.

QUIJADA-MORÍN, Natalia; JOSÉMIGUEL HERNÁNDEZHERNÁNDEZ-HIERRO, Josémiguel; JULIÁN, Julián; RIVAS-GONZALO, C.; TERESA, M.; BAILÓN, Escribano-Bailón. Extractability of Low Molecular Mass Flavanols and Flavonols from Red Grape Skins. Relationship to Cell Wall Composition at Different Ripeness Stages. [S. l.], 2015. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b00261. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.

QUIRÓS-SAUCEDA, A. E.; PALAFOX-CARLOS, H.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; AYALA-ZAVALA, J. F.; BELLO-PEREZ, L. A.; ÁLVAREZ-PARRILLA, E.; DE LA ROSA, L. A.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. **Food Funct.**, [S. l.], v. 5, n. 6, 2014. DOI: 10.1039/C4FO00073K.

RAHMANI, Zahra; KHODAIYAN, Faramarz; KAZEMI, Milad; SHARIFAN, Anousheh. Optimization of microwave-assisted extraction and structural characterization of pectin from sweet lemon peel. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 147, p.

1107–1115, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.079. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.079>.

RAUF, Abdur et al. Proanthocyanidins: A comprehensive review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 116, p. 108999, 2019. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108999.

RENARD, Catherine M. G. C. **Interactions Between Dietary Antioxidants and Plant Cell Walls**. [s.l.] : Elsevier, 2019. v. 2 DOI: 10.1016/b978-0-08-100596-5.21499-6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21499-6>.

RENARD, Catherine M. G. C.; WATRELOT, Aude A.; LE BOURVELLEC, Carine. Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 60, p. 43–51, 2017. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.10.022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.022>.

RESENDE, Laís M.; FRANCA, Adriana S.; OLIVEIRA, Leandro S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 270, n. July 2018, p. 53–60, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.079.

RESENDE, Laís M.; OLIVEIRA, Leandro S.; FRANCA, Adriana S. Characterization of jabuticaba (*Plinia cauliflora*) peel flours and prediction of compounds by FTIR analysis. **LWT**, [S. l.], v. 133, n. August, p. 110135, 2020. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110135. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110135>.

ROCCHETTI, Gabriele; CHIODELLI, Giulia; GIUBERTI, Gianluca; MASOERO, Francesco; TREVISAN, Marco; LUCINI, Luigi. Evaluation of phenolic profile and antioxidant capacity in gluten-free flours. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 228, p. 367–373, 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.01.142.

RODRIGUES, Sueli; FERNANDES, Fabiano A. N.; DE BRITO, Edy Sousa; SOUSA, Adriana Dutra; NARAIN, Narendra. Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jabuticaba peel. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 69, p. 400–407, 2015. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.02.059. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.059>.

ROHMAN, A.; MAN, Y. B. Che. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. **Food Research International**, [S. l.], v.

43, n. 3, 2010. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.12.006.

ROMAN, Laura; GUO, Mengmeng; TEREKHOV, Anton; GROSSUTTI, Michael; VIDAL, Natalia P.; REUHS, Bradley L.; MARTINEZ, Mario M. Extraction and isolation of pectin rich in homogalacturonan domains from two cultivars of hawthorn berry (*Crataegus pinnatifida*). **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 113, n. November 2020, p. 106476, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106476. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106476>.

RUBIO-DIAZ, Daniel E.; FRANCIS, David M.; RODRIGUEZ-SAONA, Luis E. External calibration models for the measurement of tomato carotenoids by infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 24, n. 1, 2011. DOI: 10.1016/j.jfca.2010.06.006.

RUBIO-SENENT, Fátima; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, Guillermo; LAMA-MUÑOZ, Antonio; GARCÍA, Aránzazu; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, Juan. Novel pectin present in new olive mill wastewater with similar emulsifying and better biological properties than citrus pectin. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 50, p. 237–246, 2015. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.03.030.

SAINI, Ramesh Kumar; NILE, Shivraj Hariram; PARK, Se Won. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, [S. l.], v. 76, p. 735–750, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.047. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>.

SALOMÃO, Luiz C. C.; SIQUEIRA, Dalmo L.; AQUINO, César F.; LINS, Leila C. R. Jabuticaba— *Myrciaria* spp. In: RODRIGUES, Sueli; SILVA, Ebenezer; BRITO, Edy De (org.). **Exotic Fruits Reference Guide**. 1st Editio ed. [s.l.] : Elsevier, 2018. p. 237–244.

SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Antioxidant Dietary Fiber Product : A New Concept and a Potential. **Journal für Ernährungsmedizin**, [S. l.], v. 46, p. 4303–4306, 1998.

SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Dietary Fiber as a Carrier of Dietary Antioxidants: An Essential Physiological Function. **J. Agric. Food Chem**, [S. l.], v. 59, p. 43, 2011. DOI: 10.1021/jf1036596. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.

SCHULZ, Hartwig; BARANSKA, Malgorzata. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, [S. l.], v. 43, n.

1, p. 13–25, 2007. DOI: 10.1016/j.vibspec.2006.06.001.

SERAGLIO, Siluana Katia Tischer; SCHULZ, Mayara; NEHRING, Priscila; DELLA BETTA, Fabiana; VALESE, Andressa Camargo; DAGUER, Heitor; GONZAGA, Luciano Valdemiro; FETT, Roseane; COSTA, Ana Carolina Oliveira. Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 239, p. 649–656, 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.118.

SERPEN, Arda; GÖKMEN, Vural; FOGLIANO, Vincenzo. Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. **Meat Science**, [S. l.], v. 90, n. 1, p. 60–65, 2012. DOI: 10.1016/J.MEATSCI.2011.05.027.

SILVA, Sandra D.; FELICIANO, Rodrigo P.; BOAS, Luís V.; BRONZE, Maria R. Application of FTIR-ATR to Moscatel dessert wines for prediction of total phenolic and flavonoid contents and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 150, 2014. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.11.028.

SILVERSTEIN, Robert M. ...; WEBSTER, Francis X. ...; KIEMLE, David J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7. ed. [s.l.] : John Wiley & Sons, Inc., 2005.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *In: Methods in Enzimology*. [s.l.] : Academic Press, 1999. v. 299. DOI: 10.1007/BF02530903.

SOQUETTA, Marcela Bromberger; STEFANELLO, Flávia Santi; HUERTA, Katira Da Mota; MONTEIRO, Sabrina Sauthier; DA ROSA, Claudia Severo; TERRA, Nelcindo Nascimento. Characterization of physiochemical and microbiological properties, and bioactive compounds, of flour made from the skin and bagasse of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). **Food Chemistry**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.12.022.

SORIANO, A.; PÉREZ-JUAN, P. M.; VICARIO, A.; GONZÁLEZ, J. M.; PÉREZ-COELLO, M. S. Determination of anthocyanins in red wine using a newly developed method based on Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 104, n. 3, p. 1295–1303, 2007. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2006.10.011.

SZYMANSKA-CHARGOT, Monika; ZDUNEK, Artur. Use of FT-IR Spectra and PCA to the Bulk Characterization of Cell Wall Residues of Fruits and Vegetables Along a Fraction Process. **Food Biophysics**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 29–42, 2013. DOI: 10.1007/s11483-012-9279

7.

TAVARES, Walter de Souza; PENA, Gabriela Ribeiro; MARTIN-PASTOR, Manuel; SOUSA, Francisco Fabio Oliveira De. Design and characterization of ellagic acid-loaded zein nanoparticles and their effect on the antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], p. 116915, 2021. DOI: 10.1016/J.MOLLIQ.2021.116915.

THE Plant List. Fornece uma lista de todas as espécies de plantas conhecidas. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>. Acesso em: 02 jun. 2016.

URQUIAGA, Inés; D'ACUÑA, Sonia; PÉREZ, Druso; DICENTA, Sara; ECHEVERRÍA, Guadalupe; RIGOTTI, Attilio; LEIGHTON, Federico. Wine grape pomace flour improves blood pressure, fasting glucose and protein damage in humans: A randomized controlled trial. **Biological Research**, [S. l.], v. 48, p. 1–10, 2015. DOI: 10.1186/s40659-015-0040-9.

VIEGAS, Olga; FARIA, Miguel A.; SOUSA, Joana B.; VOJTEK, Martin; GONÇALVES-MONTEIRO, Salomé; SULIBURSKA, Joanna; DINIZ, Carmen; FERREIRA, Isabel M. P. L. V. O. Delphinidin-3-O-glucoside inhibits angiogenesis via VEGFR2 downregulation and migration through actin disruption. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 54, p. 393–402, 2019. DOI: 10.1016/J.JFF.2019.01.039.

WROLSTAD, Ronald E. **Food Carbohydrate Chemistry**. [s.l.] : JohnWiley & Sons, Inc. and Institute of Food Technologists, 2012. DOI: 10.1002/9781118688496.

WU, Shi Biao; LONG, Chunlin; KENNELLY, Edward J. Phytochemistry and health benefits of jaboricaba, an emerging fruit crop from Brazil. **Food Research International**, [S. l.], v. 54, n. 1, p. 148–159, 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.06.021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.021>.

XU, Kang; MARTINEZ, Mario M.; YANG, Bin; GUO, Mengmeng. Fine structure , physicochemical and antioxidant properties of LM-pectins from okra pods dried under different techniques. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 241, n. March, p. 116272, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116272. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116272>.

YOSHIMURA, Yukihiro; NISHII, Saori; ZAIMA, Nobuhiro; MORIYAMA, Tatsuya; KAWAMURA, Yukio. Ellagic acid improves hepatic steatosis and serum lipid composition through reduction of serum resistin levels and transcriptional activation of hepatic ppara in obese, diabetic KK-Ay mice. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S.

*l.*], v. 434, n. 3, p. 486–491, 2013. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.03.100.

YU, Dan; HUANG, Ting; TIAN, Bin; ZHAN, Jicheng. Advances in Biosynthesis and Biological Functions of Proanthocyanidins in Horticultural Plants. **Foods**, [*S. l.*], v. 9, n. 12, p. 1774, 2020. DOI: 10.3390/foods9121774.

YU, Liang; ZHANG, Sun dong; ZHAO, Xue lian; NI, Hai yan; SONG, Xin rui; WANG, Wei; YAO, Li ping; ZHAO, Xiu hua; FU, Yu jie. Cyanidin-3-glucoside protects liver from oxidative damage through AMPK/Nrf2 mediated signaling pathway in vivo and in vitro. **Journal of Functional Foods**, [*S. l.*], v. 73, p. 104148, 2020. DOI: 10.1016/J.JFF.2020.104148.

ZAREEF, Muhammad et al. Application of benchtop NIR spectroscopy coupled with multivariate analysis for rapid prediction of antioxidant properties of walnut (*Juglans regia*). **Food Chemistry**, [*S. l.*], v. 359, 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129928.

ZHANG, Dongxian; ZHU, Jianfei; YE, Fayin; ZHAO, Guohua. Non-covalent interaction between ferulic acid and arabinan-rich pectic polysaccharide from rapeseed meal. **International Journal of Biological Macromolecules**, [*S. l.*], v. 103, p. 307–315, 2017. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2017.05.053.

ZHAO, Jin; MA, Jingxuan; ZHANG, Qi; TIAN, Jinlong; WANG, Yuehua; MENG, Xianjun. Cyanidin-3-glucoside attenuates silica-induced pulmonary inflammatory responses by modulating T cell immune responses and STAT1/STAT3 signaling. **Journal of Functional Foods**, [*S. l.*], v. 68, p. 103911, 2020. DOI: 10.1016/J.JFF.2020.103911.

ZUDE-SASSE, Manuela; TRUPPEL, Ingo; HEROLD, Bernd. An approach to non-destructive apple fruit chlorophyll determination. **Postharvest Biology and Technology**, [*S. l.*], v. 25, n. 2, p. 123–133, 2002. DOI: 10.1016/S0925-5214(01)00173-9.

ZURITA, Javier; DÍAZ-RUBIO, María Elena; SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [*S. l.*], v. 63, n. 8, p. 936–939, 2012. DOI: 10.3109/09637486.2012.681634.