



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

MÁRCIA MARIA DA SILVA CAVALCANTE

EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS, MANGIFERINA E PECTINA DA CASCA DE MANGA
(Mangifera indica L.) **CV. TOMMY ATKINS UTILIZANDO SISTEMA PRESSURIZADO.**

FORTALEZA

2018

MÁRCIA MARIA DA SILVA CAVALCANTE

EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS, MANGIFERINA E PECTINA DA CASCA DE MANGA
(Mangifera indica L.) CV. TOMMY ATKINS UTILIZANDO SISTEMA PRESSURIZADO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Química. Área de Concentração: Processos Químicos e Bioquímicos

Orientador: Prof. Dr. Edy Sousa de Brito.
Co-orientador: Prof. Dr. Guilherme Zocolo.

FORTALEZA

2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela sua misericórdia que se renova todos os dias da minha vida e pelo seu imenso amor incondicional, como dito em I Coríntios 13.

Agradeço aos meus pais Sandra e Milton, pelo seu amor, compreensão, toda ajuda e ensinamento que me deram para a vida toda.

Aos meus irmãos Magda e Marcelo, que sempre estiveram me apoiando.

Ao meu orientador Dr. Edy Souza de Brito, por todo o seu carinho, paciência e sua amizade, além de todo conhecimento repassado com muito amor que levarei para toda vida.

Ao meu co-orientador Dr. Guilherme Zocolo pela sua paciência de compartilhar seus conhecimentos.

Ao Programa de Pós-graduação da Engenharia Química, pela sua atenção e compreensão e aos professores pela sua paciência.

Aos meus amigos irmãos Leone, Suzana, Dheymar, Adriana, Meire, Isadora, Rafael, Emanuel, Janaína, Tenísia, Pastores Val e Douglas, por toda ajuda de conhecimento e apoio nos momentos difíceis.

À Embrapa Agroindústria Tropical pelas instalações e a toda equipe de técnicos: Lorena, Paulo, Elenilson, Tigressa. Pelos meus colegas: Rose, Paloma, Sheila, Oiram, Johnny, Marcelo, Fátima, Kaline, Camila e Leonardo.

A minha professora do coração Carolina Gondim que com tanto carinho, paciência e dedicação que me ajudou na concretização deste mestrado.

Aos amigos do mestrado, principalmente: Máisa, Aurélia, José, Rayanne, Layanne, Bruna, Tiago, Pedro, Ailton, Virgínia e Rhonyele pelas palavras e apoio nos momentos mais difíceis.

A Capes, pelo apoio financeiro.

*"Porque Deus tanto amou o mundo que deu o seu Filho Unigênito, para que todo o que nele crer não pereça, mas tenha a vida eterna."
(João 3:16)*

RESUMO

A manga (*Mangifera indica* L.) faz parte da família dos Anacardiaceae. O Brasil é um país de grande atividade agroindustrial e, com isso, produz uma quantidade considerável de resíduos que podem ser aproveitados para a obtenção de compostos fenólicos, mangiferina e pectina, que possuem aplicabilidade nas indústrias farmacêuticas, cosméticos, químicas e alimentícias. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o processo de extração de polifenóis, mangiferina e pectina da casca de manga. As extrações foram realizadas utilizando as técnicas de extração por solvente pressurizado (ESP) e a extração por soxhlet (técnica convencional). As condições de processo para o Soxhlet foram: 600 mL de metanol P.A na proporção de 1:60 (m/v) e no tempo de 9 h, em triplicata. Para a ESP as condições foram: pressão de 10,3-11,7 MPa; rinse de 5 minutos; 1 ciclo e purga de 200s. Sendo realizado variações de tempo (3, 5, 10 e 15 min), temperatura (40, 50, 60, 70, 80 e 90°C) e o sistema solvente etanol/água nas proporções: 80, 70, 60, 50 e 40% (v/v) em triplicada. Para a extração de pectina utilizou-se a técnica de extração assistida por ultrassom (EAU), realizada sequencialmente após a extração dos fenólicos, utilizando uma solução aquosa de ácido cítrico 1%, a 80°C, por 10 min. As determinações analíticas realizadas no presente trabalho foram: determinação do teor de polifenóis totais, identificação dos compostos e quantificação da mangiferina, além do rendimento e a caracterização do polímero péctico. Os resultados dentre os tipos de extrações, mostrou que a técnica de extração que se destacou foi a ESP, pois é mais rápida e simples. O tipo de solvente que com o maior rendimento foi o metanol, este sendo substituído pelo etanol, pois possui as propriedades semelhantes e uma menor toxicidade ao consumidor. E a proporção 50:50 (v/v) etanol/água, se mostrou promissora, pois apresentou um teor de 3,50 g de mangiferina / g de casca a 70°C e 74,00 mg de EAG/100g de casca a 80°C. O rendimento de pectina extraída foi de 8,17% de casca para o material previamente extraído por ESP e 2,38% para o material previamente extraído em Soxhlet, ambas não tendo diferença significativa a 5%. Já a caracterização péctica, o maior grau de metoxilação foi por ESP com 60,1%, além de ser um composto formado por ácido α -galacturônico e apresentar resíduos de arabinogalactanas.

Palavras-Chaves: Tommy Atkins. Polissacarídeos. ESP.

ABSTRACT

Mango (*Mangifera indica* L.) is part of the Anacardiaceae family. Brazil is a country of great agroindustrial activity and, with this, produces a considerable amount of waste that can be used to obtain phenolic compounds, mangiferine and pectin, which have applicability in the pharmaceutical, cosmetic, chemical and food industries. Thus, the objective of the present work was to evaluate the process of extraction of polyphenols, mangiferine and pectin from mango peel. The extractions were performed using pressurized solvent extraction (ESP) and soxhlet extraction (conventional technique). The process conditions for the Soxhlet were: 600 mL of methanol P.A in the ratio of 1:60 (m / v) and in the time of 9 h in triplicate. For ESP the conditions were: pressure of 10.3-11.7 MPa; 5 minutes; 1 cycle and purge of 200s. When time variations are performed (3, 5, 10 and 15 min), temperature (40, 50, 60, 70, 80 and 90°C) and the solvent ethanol / water system in the proportions: 80, 70, 60, 50 and 40% (v/v) in triplicate. For the extraction of pectin the ultrasonic assisted extraction technique (EAU), carried out sequentially after extraction of the phenolics, was used using a 1% aqueous solution of citric acid at 80 ° C for 10 min. The analytical determinations carried out in the present work were: determination of the total polyphenol content, identification of the compounds and quantification of mangiferin, besides the yield and the characterization of the pectic polymer. The results of the extractions, showed that the extraction technique that stood out was the ESP, because it is faster and simpler. The type of solvent with the highest yield was methanol, which is replaced by ethanol, as it has similar properties and a lower toxicity to the consumer and the 50:50 (v/v) ethanol/water ratio was promising, since it presented a content of 3.50 g of mangiferin / g of bark at 70 ° C and 74.00 mg of EAG / 100g of bark a 80 ° C. The yield of pectin extracted was 8.17% of bark for the material previously extracted by ESP and 2.38% for the material previously extracted in Soxhlet, both having no significant difference at 5%. The peccary characterization, the highest degree of methoxylation was by ESP with 60.1%, in addition to being a compound formed by α -galacturonic acid and presenting arabinogalactan residues.

Keywords: Tommy Atkins. Polysaccharides. ESP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Manga Tommy Atkins.....	14
Figura 2 - Estrutura química da mangiferina	17
Figura 3 - Estrutura química da pectina.....	18
Figura 4 - Casca de manga com granulometria menor ou igual a 50 µm.....	22
Figura 5 - Processo de extração dos compostos fenólicos, mangiferina e pectina da casca de manga.....	23
Figura 6 - Fluxograma de extração da pectina após extração por soxhlet.....	25
Figura 7 - Fluxograma de extração de compostos fenólicos e pectina por ESP.....	25
Figura 8 - Pectina purificada obtida das extrações. (a) Pectina proveniente da extração por soxhlet. (b) Pectina proveniente da extração por solvente pressurizado.....	26
Figura 9 - Fluxograma da Extração em Fase Sólida-SPE.....	29
Figura 10 - Espectro de RMN ¹ H- ¹³ C HSQC e as respectivas atribuições da pectina isolada da casca de manga utilizando o a) ESP e b) Soxhlet.....	35
Figura 11 - Espectro de RMN ¹ H com a indicação dos hidrogênios integrados para a realização do cálculo de DM em que: a) ESP e b) Soxhlet.....	36
Figura 12 - Gráficos de linearidade: (a) Curva de calibração do padrão intra-dia (n=11); (b) Curva de calibração do padrão inter-dia (n=11).....	37
Figura 13 - Perfil cromatográfico do extrato metanólico na proporção 90:10 de metanol/água, respectivamente.....	40
Figura 14 - Gráficos com quantidade de fenólicos totais obtido da extração por solvente pressurizado – ESP: (a) Com variação da temperatura x concentração de solvente; (b) Com variação do tempo*.....	46
Figura 15 - Gráficos com quantidade de mangiferina obtido da extração por solvente pressurizado – ESP: (a) Com variação da temperatura x concentração do solvente; (b) Com variação do tempo*.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classe de compostos fenólicos encontrados na natureza.....	17
Tabela 2- Rendimento em massa da extração por soxhlet e ESP.....	33
Tabela 3 - Resultados estatísticos para regressão linear da curva analítica de calibração do padrão, teste F e teste t-Student a um nível de confiança de 95 %.....	38
Tabela 4 - Identificação de compostos encontrados no extrato metanólico na proporção 90:10 de metanol/água, respectivamente.....	41
Tabela 5 - Quantidade de polifenóis totais na extração por soxhlet e ESP.....	43
Tabela 6 - Quantidade de polifenóis totais com a variável tempo para ESP.....	45
Tabela 7 - Quantidade de mangiferina na extração por soxhlet e ESP.....	47
Tabela 8 - Quantidade de mangiferina com a variável tempo para ESP.....	48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Manga.....	13
2.2 Resíduos do processamento industrial da manga.....	14
2.3 Aplicações da casca de manga.....	15
2.4 Compostos fenólicos e mangiferina presentes na casca de manga.....	15
2.4.1 <i>Compostos fenólicos</i>	16
2.4.2 <i>Mangiferina</i>	17
2.4.3 <i>Pectina</i>	18
2.5 Extração.....	19
2.5.1 <i>Extração por solvente pressurizado – ESP</i>	20
2.5.2 <i>Extração assistida por ultrassom</i>	20
2.5.3 <i>Extração por soxhlet</i>	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Coletas e preparo das cascas para extração.....	21
3.2 Processos de extração.....	22
3.3 Casos de estudo (Pré – testes).....	23
3.4 Preparo dos extratos.....	24
3.4.1 <i>Condições da extração por soxhlet</i>	24
3.4.2 <i>Condições da extração com solvente pressurizado(ESP)</i>	24
3.4.3 <i>Condições da extração de pectina</i>	24
3.4.4 <i>Ressonância Magnética Nuclear da pectina</i>	26
3.5 Determinações analíticas.....	27
3.5.1 <i>Rendimento dos extratos e pectina</i>	27
3.5.2 <i>Polifenóis Totais</i>	28
3.5.3 <i>Quantificação da mangiferina</i>	28
3.5.4 <i>Identificação dos compostos bioativos</i>	29
3.6 Validação do Método.....	30
3.6.1 <i>Linearidade</i>	30
3.6.2 <i>Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)</i>	31
3.6.3 <i>Precisão</i>	31
3.6.4 <i>Repetibilidade</i>	32
3.7 Análise estatística.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32

4.1 Rendimentos dos estratos utilizando distintos solventes.....	32
4.2 Rendimento e caracterização da pectina utilizando diferentes extrações.....	33
4.3 Caracterização do polímero péctico por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	34
4.4 Validação do método.....	37
4.4.1 <i>Linearidade, limite de detecção(LOD) e limite de quantificação(LOQ)</i>	37
4.4.2 <i>Precisão</i>	38
4.4.3 <i>Repetibilidade</i>	38
4.5 Identificação dos compostos bioativos.....	39
4.6 Polifenóis Totais.....	43
4.7 Quantificação da mangiferina.....	47
5. CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	51

A manga (*Mangifera indica* L.) faz parte da família dos Anacardiaceae (JAHURUL *et al.*, 2015), fruta nativa da Ásia (região do sudoeste), precisamente da Índia (VETUCCI; BERALDO; CALDERAN, 2016). As mangas de variedades como Tommy Atkins, Keitt, Kent e Palmer são responsáveis pela maior parte das exportações brasileiras. No Brasil a produção de manga em 2016 foi de 1.159 mil toneladas, de acordo com dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, (2016).

Com o largo emprego no processamento industrial, torna inevitável a geração de grandes quantidades de casca como resíduo, causando um impacto substancial ao meio ambiente. Esta biomassa residual que não são utilizados e nem reaproveitados, estão sendo matéria-prima para cientistas, produtores e indústria que em conjunto buscam solucionar o problema de descarte desta biomassa residual (HUBER *et al.*, 2012; SOUZA, 2015a).

Uma boa alternativa para o emprego do resíduo é a recuperação das substâncias bioativos, na qual a casca é rica destes compostos. Tal fonte natural já é reconhecida pelas suas propriedades promotoras à saúde e aplicações tecnológicas, tais como antioxidantes, antimicrobianos, antifúngicos, anti-inflamatório; entre outros (ARBOS; STEVANI e CASTANHA, 2015; JAHURUL *et al.*, 2015)

Os compostos presentes na casca de manga são os carotenóides (SIRIAMORNUN; TANGKHAWANIT e KAEWSEEJAN, 2016), compostos fenólicos e xantonas como a mangiferina (AJILA; JAGANMOHAN RAO; PRASADA RAO, 2010). Um outro componente existente na casca de manga é a pectina, bastante utilizada como substituto de gordura em sorvetes.

Para que ocorram estudos com os compostos presentes na manga ou partes dela, o processo de extração possui um papel crucial no preparo de amostras, na avaliação experimental e nas análises quantitativas e qualitativas dos compostos bioativos. Diferentes técnicas estão disponíveis para a extração de componentes bioativos como Soxhlet, Micro-ondas Assistida, Extração Assistida por ultrassom (EAU) e Extração por Solvente Pressurizado (ESP) (IMRAN *et al.*, 2016).

Dentre as técnicas citadas, as mais exploradas atualmente em âmbitos laboratoriais e em escala industrial, são: a extração assistida por ultrassom (EAU), pois possui alta eficiência na extração de componentes, como a pectina, há um baixo consumo de solventes e a execução da operação é simples (SOUZA, 2015a). Outra técnica eficiente seria a

extração por solvente pressurizado (ESP), pois possui vantagens como a utilização de menos quantidade de solvente; seu procedimento pode ser automático, o que facilita em uma extração simultânea de amostras múltiplas; o tempo de preparação de amostra é curto e as recuperações das extrações são mais elevadas (DING *et al.*, 2011).

Além dos métodos de extração há outro fator para ser averiguado, que é o tipo de solvente utilizado no momento da extração dos compostos bioativos presente na casca da manga. A água é um solvente inorgânico universal, utilizado na extração de compostos fenólicos, porém alguns fenólicos com alto peso molecular são altamente insolúveis em água. Já os solventes alcoólicos são os mais aplicados, em função de sua polaridade, contudo uma mistura de solventes alcoólicos e água aumentam a eficiência do processo de extração dos compostos fenólicos e mangiferina (SOUZA, 2015a; (SOUZA, 2015b; CAPELLINI, 2013).

Já para a extração de pectina, estudos relatam que um tratamento com ácidos minerais (ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico) a alta temperatura durante longas durações são bastante eficientes. Outro método, seria a aplicação do ácido cítrico como agente quelante, devido à sua natureza ligeiramente ácida (BANERJEE *et al.*, 2016). Segundo Souza (2015a) a eficiência do processo de extração dependerá dos parâmetros definidos.

Portanto o objetivo geral deste trabalho foi extrair polifenóis, mangiferina e pectina da casca de manga (*Mangifera indica* L.), da variedade Tommy Atkins utilizando o sistema de extrações de solvente pressurizado. Os objetivos específicos foram:

- Definir o melhor sistema de solvente para a extração da casca de manga, baseado no rendimento dos extratos em massa e no tipo dos compostos extraídos;
- Identificar os compostos fenólicos e mangiferina presentes no extrato da casca de manga;
- Definir a melhor condição do processo de extração de compostos fenólicos totais e mangiferina;
- Definir os parâmetros do processo de extração do polímero péctico presente na casca de manga e realizar a caracterização do polímero péctico.

2.1 Manga

A manga (*Mangifera indica* L.) pertence à família dos Anacardiaceae, ordem Sapindales (JAHURUL *et al.*, 2015). Existem os gêneros *Mangifera*, *Anacardium*, *Pistachio* e *Spondias*, em que o gênero *Mangifera* há relatos de 69 espécies, sendo a *Mangifera indica* L. a de maior importância, apesar de existirem espécies, como a *M. altissima*, *M. caesia*, *M. lagenifera*, *M. macrocarpa*, *M. odorata* e *M. sylvatica* (ARAÚJO, 2016).

Segundo Rocha, Silva e Neto (2016), a manga está dentre as 25 espécies de frutas que o Brasil produz e exporta, sendo o 7º maior exportador. Em 2017, cerca de 179 mil toneladas foram produzidas, gerando uma receita de US\$ 205 milhões. Segundo o Anuário Brasileiro da Fruticultura (2018) um dos fatores que contribui para o destaque da produção brasileira, é o fato do país conseguir produzir o ano inteiro.

A manga Tommy Atkins é uma variação da família Anacardiácea, tendo origem na Flórida, USA. Possui tamanho de médio para grande, com casca espessa e formato oval (Figura 1). Apresenta coloração laranja-amarela coberta com vermelho púrpura. A polpa é firme e succulenta, além de ser resistente a antracnose e a danos mecânicos. É uma das variedades que apresenta facilidade para indução floral em época quente, alta produtividade e boa vida de prateleira (COSTA e SANTOS, 2004).

O consumo da manga, em sua maioria é in natura, porém, sua polpa é bastante utilizada no processo industrial alimentício, fazendo parte da formulação de geléias, sorvetes, sucos, néctares, doces em massa e alimentos infantis (GERAILDO *et al.*, 2013). A expressiva produção de alimentos industrializados provenientes da polpa da manga, torna a quantidade de substratos, como as cascas e amêndoas da manga, um prejuízo para as empresas e para o meio ambiente (PEDRASSOLLI, JUNIOR e PANDOLFI 2015).



Fonte: Autor, 2017.

2.2 Resíduos do processamento industrial da manga

Com a fabricação de produtos industriais provenientes da manga, gera-se o equivalente a 28 ou 60% de subprodutos (casca e amêndoa), sendo descartados como lixo durante o processamento. Com o aproveitamento desses resíduos, busca-se diminuir a intensidade dos impactos ambientais por eles gerados em condições inadequadas de descarte (GIORDANI JUNIOR *et al.*, 2014).

Um melhor aproveitamento dos resíduos vem ganhando importância nas indústrias e instituições de pesquisa, pois além dos benefícios ambientais, trazem vantagens econômicas às empresas (TREIN *et al.*, 2016). Além do aproveitamento integral da manga ser uma alternativa para suprir as necessidades nutricionais, agrega valores ao agronegócio e reduz o lixo orgânico (SILVA *et al.*, 2013).

De acordo com De Oliveira *et al.*, (2009), uma das alternativas mais eficazes é a recuperação de constituintes bioativos alimentares, desta forma poderiam ser utilizados na indústria farmacêutica, cosmética e alimentar.

Segundo Souza *et al.* (2015), dependendo da tecnologia disponível para a recuperação dos compostos, estes resíduos agrícolas podem ser transformados em produtos comerciais, como matéria-prima, suprimento operacional e na formulação de novos produtos.

2.3 Aplicações da casca de manga

Segundo Marques *et al.*, (2010), estudos mostram que a casca possui mais nutrientes que as polpas. Na manga, a sua casca é rica em carboidratos, pobre em gordura e boa fonte de proteína e pectina (FELIPE *et al.*, 2008).

As cascas de manga possuem compostos fenólicos e ácido ascórbico, dentre outros componentes biologicamente ativos que influenciam positivamente na saúde. No entanto pode ser uma alternativa útil para substâncias sintéticas na alimentação. Estes compostos podem também ser utilizados como aditivos alimentares e nutracêuticos (PARNIAKOV *et al.*, 2016; ALI *et al.*, 2012).

Azevedo *et al.* (2008) relataram que a farinha elaborada da casca de manga contém teores significativos de fibras, proteínas, minerais e baixo teor de atividade de água, confirmando o que relata Marques *et al.* (2010), ao dizerem que a casca de manga contém conteúdo de nutrientes maiores na casca do que na polpa.

A utilização da casca de manga, como fonte alimentar na ingestão diária humana ou animal, mostra-se viável, além de reduzir custos e ao mesmo tempo diminuir os problemas de eliminação dos resíduos provenientes do processamento (ZERAİK *et al.*, 2010).

2.4 Compostos fenólicos e mangiferina presentes na casca de manga

Os compostos bioativos estão presentes em frutas e vegetais. Os principais encontrados são os compostos fenólicos, xantonas e carotenóides, podendo ser identificados e caracterizados a partir de várias partes, como folha, caule, flor e frutos (AZMIR *et al.*, 2013). Estes compostos apresentam propriedades benéficas à saúde, como antioxidantes, antialérgicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas e efeitos antitrombóticos (AJILA; JAGANMOHAN RAO; PRASADA RAO, 2010).

De acordo com Siriamornpun; Tangkhawanit e Kaewseejan, (2016) e Dorta *et al.* (2014) a casca de manga possui alto teor de compostos bioativos, tais como carotenóides, compostos fenólicos e grande quantidade de atividade antioxidante.

Já Huber *et al.* (2012), demonstraram que na manga os principais compostos fenólicos presentes são o ácido gálico, ácido elágico, galatos, galotaninos, taninos condensados, catequina, epicatequina, além de xantona (mangiferina).

A seguir são apresentadas as estruturas fenólicas e a mangiferina encontradas em casca da manga.

Os compostos fenólicos são um dos maiores grupos presentes em plantas. Sendo originados do metabolismo secundário dessas, e essenciais para o seu crescimento e reprodução. Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (SARTORI, 2012).

Na natureza há uma diversidade de combinações (Tabela 1), categorizadas em várias classes de acordo com o tipo de esqueleto principal que constitui o anel benzênico e com a cadeia substituinte, como ácidos e ésteres (ácido gálico), derivados da benzofenona (3-C-b-D-glucosil-maclurina), flavanóis (catequina), antocianinas (3-O-galactosil-cianidina), flavonóis (quercetina), heterosídeos flavonóis (3-O-galactosil-rhamnetina) e heterosídeo xantônico (mangiferina) (CANUTO, 2009; BORGES, 2011).

A origem desses metabólitos na planta é, em sua maioria, produzida pelo seu sistema de defesa contra a radiação ultravioleta e a ação ou agressão de patógenos. Entretanto, o organismo humano não é capaz de sintetizar os compostos fenólicos, assim a fonte dessas substâncias é oriunda da dieta alimentar com vegetais (SOUZA, 2015a).

Os compostos fenólicos são neutralizadores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da autoxidação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. As principais fontes de compostos fenólicos são as frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de outras frutas como cereja, uva, ameixa, manga, pêra, maçã e mamão (ROCKENBACH, 2008).

Tabela 1 – Classe de compostos fenólicos encontrados na natureza.

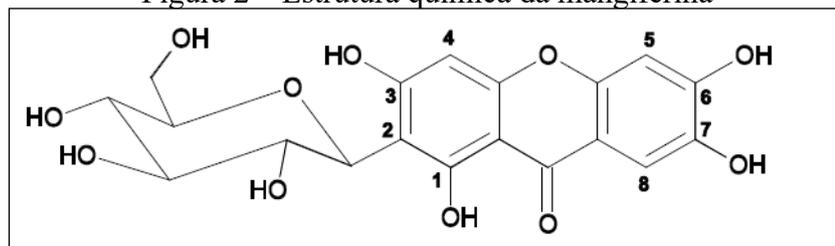
CLASSE	ESTRUTURA
Fenólicos simples, benzoquinona	C6
Ácidos hidroxibenzoicos	C6 - C1
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C6 - C2
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C6 - C3
Nafitoquinonas	C6 - C4
Xantonas	C6 – C1 - C6
Estilbenos, antoquinonas	C6 – C1 - C6
Flavonóides, isoflavanóides	C6 – C3 - C6
Lignanás, neolignanás	(C6 – C3) n
Bioflavonóides	(C6 – C3) 2
Ligninas	(C6 – C3) n
Taninos condensados	(C6 – C3 - C6) n
Taninos hidrolisáveis	(C6 – C1) n

Fonte: Borges, 2011.

2.4.2 Mangiferina

A mangiferina é um composto bioativo majoritário na casca de manga. Essa substância desempenha o papel na indução do crescimento vegetativo, na inibição da ocorrência da má-formação da planta e possui estrutura molecular 2-C-b-D-glicopiranosil-1, 3, 6, 7-tetrahidroxi-xantona (Figura 2). Também existem estudos com este composto no ramo da farmacologia e cosméticos, em virtude de ele possuir atividade antioxidante, anti-inflamatória, hipoglicemiante, imunomodulatória (CANUTO, 2009).

Figura 2 – Estrutura química da mangiferina



Fonte: Canuto, 2009.

A mangiferina é facilmente extraível por infusões e decocções. Outra característica é que a molécula possui quatro grupos hidroxila aromática que determinam suas fortes propriedades anti-radicaís e antioxidantes, além de ser um eficiente agente quelante de ferro (MATKOWSKI et al. 2013).

Santos *et al.*, (2016) comprovaram que a mangiferina possui ação inibidora no processo corrosivo do aço carbono, comprovando o seu potencial antioxidante. Na Indonésia a mangiferina é um dos principais compostos presentes na *Phaleria macrocarpa*, planta popular na ilha Papua, objeto de pesquisas para diminuir o nível de glicemia, aumentar o nível de insulina e a atividade das vias enzimáticas compostas no metabolismo da glicose (ALARA, ABDUL MUDALIP e OLALERE, 2017).

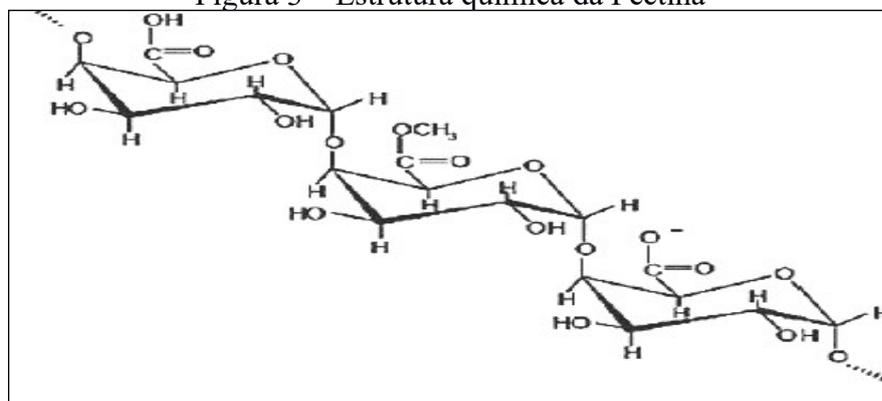
Trevisan *et al.* (2016) estudaram a extração da mangiferina em folhas em pó de café da espécie brasileira *Coffea arabica*, mostrando que a liberação da xantona nesta espécie ocorre a 100°C, podendo contribuir significativamente para a ingestão deste composto, já que tem alto potencial como agente quimiopreventivo para câncer.

2.4.3 Pectina

A pectina é um composto da família de oligossacarídeos e polissacarídeos, todavia extremamente diverso em sua estrutura fina. A estrutura pectica é primariamente um homopolímero de ácido galacturônico ligado em α (1→4), com grau variável de grupos carboxilas metil esterificados conforme a Figura 3 (CANTERI, 2010).

A massa molar das pectinas depende da fonte vegetal, matéria-prima e condições de extração, segundo Canteri, (2010). Em estudos realizados por Rehman *et al.*, (2004) obteve-se um rendimento de 21% de extração de pectina utilizando o ácido sulfúrico a pH 2.5, 80 ° C por 120 min.

Figura 3 – Estrutura química da Pectina



Fonte: Souza, 2015.

Os géis de pectina são vistos como sistemas híbridos de duas fases, com a forma de rede tridimensional com longas cadeias de ácidos pectínicos e a fase aprisiona igualmente contínua ou finalmente dispersa. Na literatura a pectina da casca de manga é estudada a

capacidade de formação de gel, porém atualmente, ocorrem estudos em sua aplicação como um emulsionante eficaz (WANG *et al.*, 2016; CANTERI, 2010).

Os polissacarídeos pécticos promovem aumento de viscosidade, isto para o setor industrial é importante, pois funciona como coloides estabilizante e protetor em alimentos e bebidas, com aplicação em doces e geléias, como substituto de gordura em cremes para sorvetes e temperos para saladas (VORAGEN, 2009).

A qualidade reológica da pectina pode favorecer o custo/benefício na obtenção de uma pectina comercial, sendo obtidas principalmente a partir de casca de frutas cítricas. Entretanto, devido a uma grande demanda industrial outras fontes estão sendo pesquisadas, tais como as cascas de maracujá e manga, assim assegurando aos clientes a força de gel desejada e com uma excelente qualidade (SOUZA, 2015a; CANTERI, 2010).

2.5 Extração

A casca de manga como resíduo agroindustrial representa uma alternativa para a recuperação de compostos bioativos de alto valor (GARCIA-MENDOZA *et al.*, 2015). O processo de extração destes compostos depende dos parâmetros de extração, para uma eficiência do método. Para isto, precisam ser investigados e otimizados tais parâmetros: relação sólido / líquido, concentração de solvente, temperatura e o tempo de extração (RAWDKUEN; SAI-UT e BENJAKUL, 2016).

Existem vários métodos de extração eficientes quando comparadas aos métodos convencionais (Soxhlet), como por exemplo, extração assistida por ultrassom, extração com fluido supercrítico, extração por solvente pressurizado, extração assistida por micro-ondas (THIRUGNANASAMBANDHAM; SIVAKUMAR e PRAKASH MARAN, 2014).

Já a alta eficácia da extração de compostos bioativos, dependerá do tipo de solvente utilizado. Os extratos sempre contêm mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido (SOUZA, 2015a).

De acordo com Capellini, (2013), os solventes alcoólicos são capazes de extrair quantidades maiores de fosfolipídios e material insaponificável em sua composição, como por exemplo o etanol que consegue extrair açúcares, fosfolipídios, pigmentos e ceras de melhor qualidade com relação ao hexano.

O solvente alcoólico combinado com a água, torna-se uma mistura de alta eficiência para a extração de fenólicos, pois a água extrai os compostos polares e os alcoólicos

extraem os compostos apolares, assim esta combinação entre estes dois solventes aumentam o rendimento de biomassa da extração (SOUZA, 2015b).

Segundo Banerjee *et al.*, (2016), métodos de extração de pectina necessitam de solventes minerais, que incluem o ácido clorídrico, ácido nítrico e ácido sulfúrico em diferentes períodos de tempo e com pH variando de 1.5 – 3.0. Porém a desvantagem deste processo é que, geralmente é longo e pode levar à degradação da pectina.

Para facilitar a difusão da célula vegetal, atualmente combinam-se métodos como a extração assistida por ultrassom, sendo esta uma primeira etapa do processo e em segundo utiliza-se a extração com os solventes minerais e até orgânicos como o ácido cítrico, aumentando a eficiência do processo e reduzindo as possíveis degradações da pectina (WANG *et al.*, 2016; BANERJEE *et al.*, 2016).

Segundo Souza, (2015a) diversas metodologias de extração foram desenvolvidas nos últimos anos, dentre estas metodologias podemos citar: extração assistida por ultrassom (EAU) e a extração com solvente pressurizado (ESP).

2.5.1 Extração por solvente pressurizado – ESP

A técnica por extração por solvente pressurizado é uma alternativa interessante para a extração de bioativos (GARCIA-MENDOZA *et al.*, 2015). Logo a extração com solvente pressurizado utiliza líquidos a elevadas pressões, em torno de 10.3 a 13.8 MPa e temperaturas de 40 – 200°C, sendo o seu objetivo reduzir o consumo de solventes e o tempo de preparação de amostras. O método do ESP especifica-se ao fato das enzimas que degradam os compostos fenólicos, serem inibidas devido às altas pressões e à adição de CO₂ à amostra (SEMEDO, 2012).

2.5.2 Extração assistida por ultrassom – EAU

A extração assistida por ultrassom (EAU) é um processo que utiliza a energia das ondas sonoras que são transmitidas em frequência superior à capacidade auditiva humana. As ondas utilizadas em torno de 20-100 Hz desestruturam a matriz dos vegetais por causa do estresse mecânico ocasionado nas células, aumentando assim, a permeabilidade nas paredes celulares e em consequência, permitindo a saída de compostos. O ultrassom é utilizado para a

extração de compostos voláteis de plantas com solventes orgânicos, em temperatura ambiente (SOUZA, 2015).

A EAU é amplamente empregada para a extração de antocianinas, compostos fenólicos e pectina. Este método tem a vantagem de ser eficaz na extração de compostos de amostras sólidas, devido à sua rapidez, simplicidade, baixo custo e volume de solventes reduzido (ESPADA-BELLIDO *et al.*, 2017).

2.5.3 Extração por soxhlet

O soxhlet é uma técnica de extração antiga, porém de referência em estudos para comparação com novos métodos, sendo utilizado em matrizes sólidas e ocorrendo de forma contínua (SANTOS, 2013).

As vantagens da extração por este método são: a alta eficiência; a amostra sempre está em contato com o solvente renovado constantemente; é um processo simples e não há necessidade de filtração após o processo. Já suas limitações são o uso excessivo de solvente; utilização somente de solventes orgânicos; falta de controle da temperatura e longo tempo de extração (FELLOWS, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coletas e preparo das cascas para extração

Foram utilizados frutos de *Mangifera indica* L., da variedade Tommy Atkins, adquiridos na Central de Abastecimento S/A de Fortaleza – CEASA-CE. Os frutos foram acolhidos na Embrapa Agroindústria Tropical, assentada em Fortaleza, Ceará. Os frutos foram higienizados e despulpados no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN). As cascas foram secas em estufa de circulação de ar a 65°C por 66 h, em seguida foram moídas em moinho de facas tipo Willey, modelo BT 602. Posteriormente, as cascas moídas foram classificadas, por granulometria, com tamanho de partícula menor ou igual a 50µm (Figura 4). O material foi armazenado em temperatura ambiente.

Figura 4 - Casca de manga com granulometria menor ou igual a 50 µm. 22

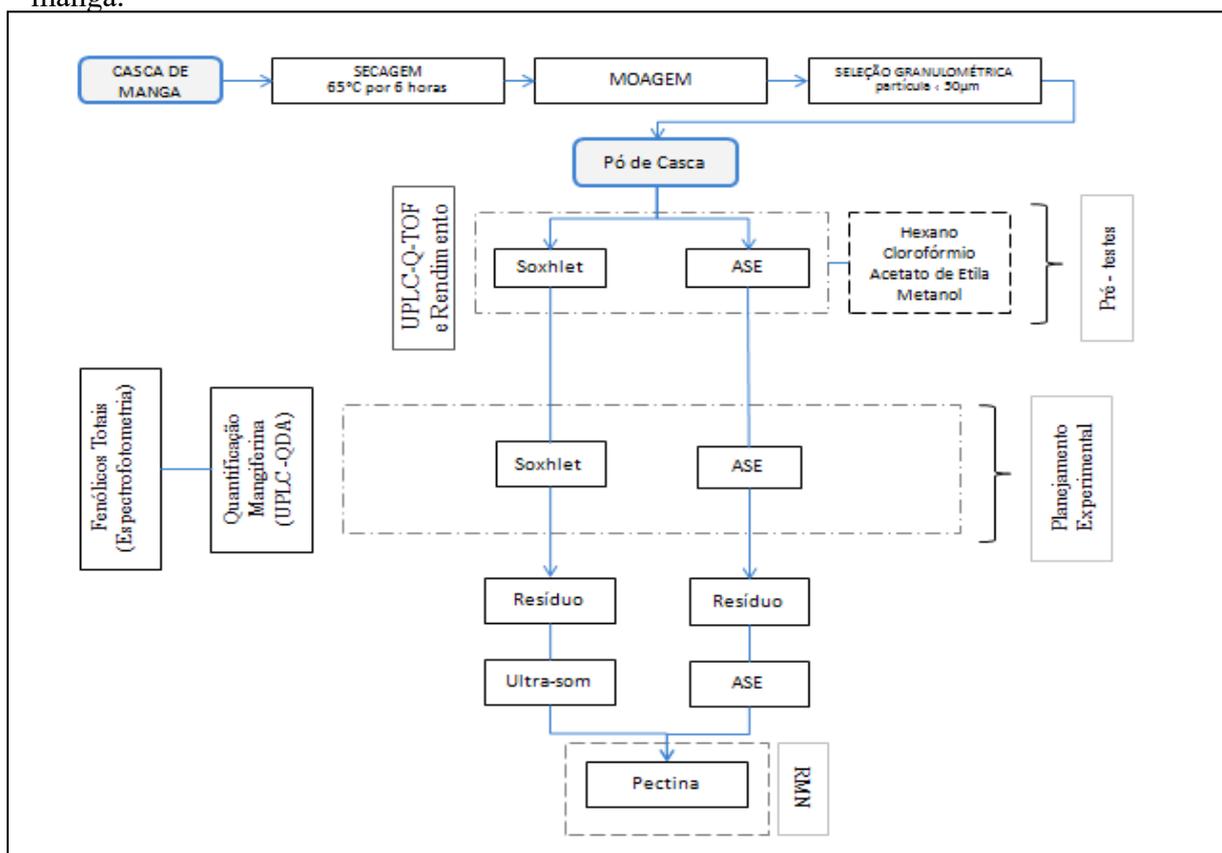


Fonte: Autor, 2017.

3.2 Processos de extração

O processo de extração de compostos fenólicos, mangiferina e pectina foi realizado com dois métodos diferentes: soxhlet e extração por solvente pressurizado (ESP). As extrações foram realizadas em triplicata, com exceção da extração por soxhlet. Antes do planejamento experimental foi realizado um estudo de caso (Pré-testes). Abaixo temos o fluxograma (Figura 5) de todo o processo do estudo do presente trabalho.

Figura 5 - Processo de extração dos compostos fenólicos, mangiferina e pectina da casca de manga.



Fonte: Autor, 2017.

Esta etapa foi dividida em dois estágios: No estágio 1 foi realizado testes para avaliar os diferentes solventes utilizados sequencialmente: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Os métodos utilizados para a extração dos compostos foi o Soxhlet e ESP. Este primeiro estágio foi desempenhado para a avaliação da afinidade dos solventes para extrair os compostos bioativos da casca de manga.

No estágio 2 foram avaliadas a influência das metodologias de extração: Soxhlet e ESP, na remoção de compostos bioativos na *Mangifera indica* L. Nesta etapa também foram realizadas determinações analíticas como: análise de rendimento em massa das extrações, cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC – Q-TOF).

3.4 Preparo dos extratos

Nesta etapa foram realizadas extrações e condições conformes reportados na literatura e nos pré-testes.

3.4.1 Condições da extração por soxhlet

A extração foi realizada utilizando-se 10g da amostra em cartucho de extração e colocados no sistema do soxhlet adicionado com 600mL de metanol P.A na proporção de 1:60 (m/v), no tempo de 9h, em triplicata. Esta metodologia objetivou-se a extração de compostos fenólicos nas matrizes sólidas.

3.4.2 Condições da extração com solvente pressurizado-(ESP)

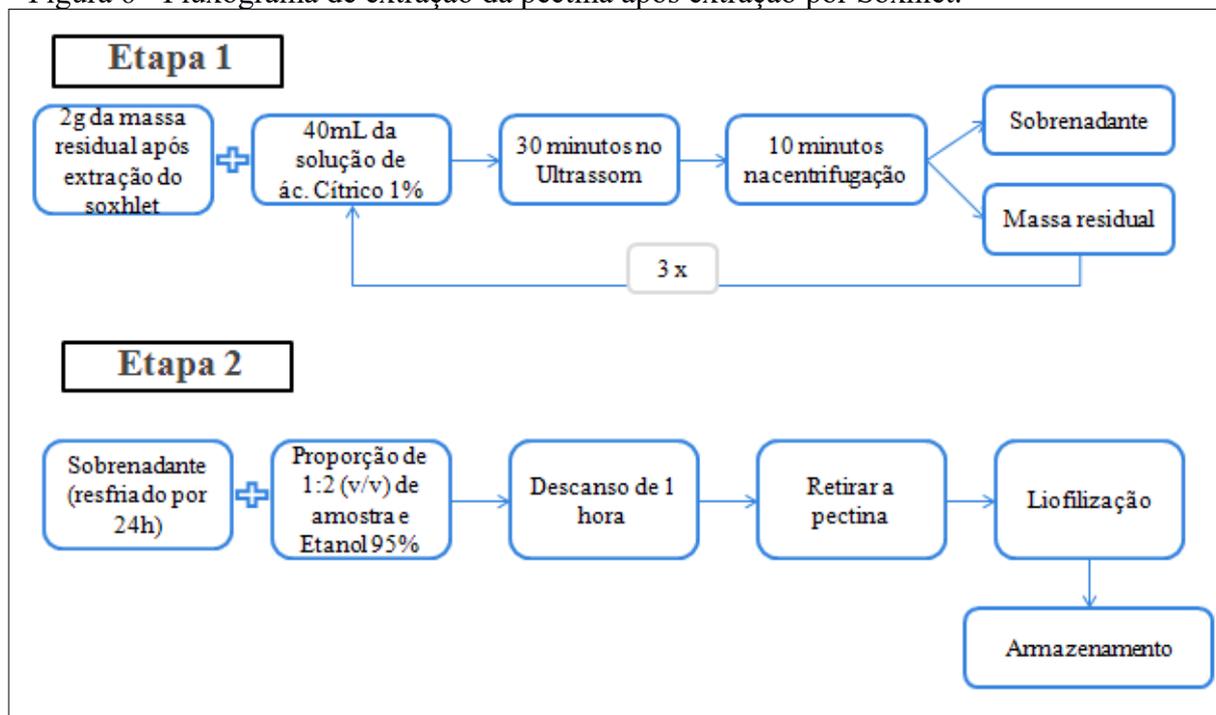
A técnica ESP foi realizada em um extrator automático, modelo ASE 350 Dionex. Inicialmente pesou-se 2g da amostra e misturou-se com 0,1g de terra diatomácea. Em seguida, a mistura resultante foi colocada em uma célula extratora de aço inoxidável de volume 34mL. As condições de processo foram: pressão de 10342-11721 kPa; rinse de 5 min; 1 ciclo e purga de 200s, com variações de tempo (3, 5, 10 e 15 min), temperatura (40, 50, 60, 70, 80 e 90°C) e o solvente etanol nas proporções: 80, 70, 60, 50 e 40% (Figura 7).

As amostras obtidas foram evaporadas no rotaevaporador. Os extratos foram armazenados a -18°C. Todas as extrações foram realizadas em triplicata. As condições das extrações foram reportadas na literatura.

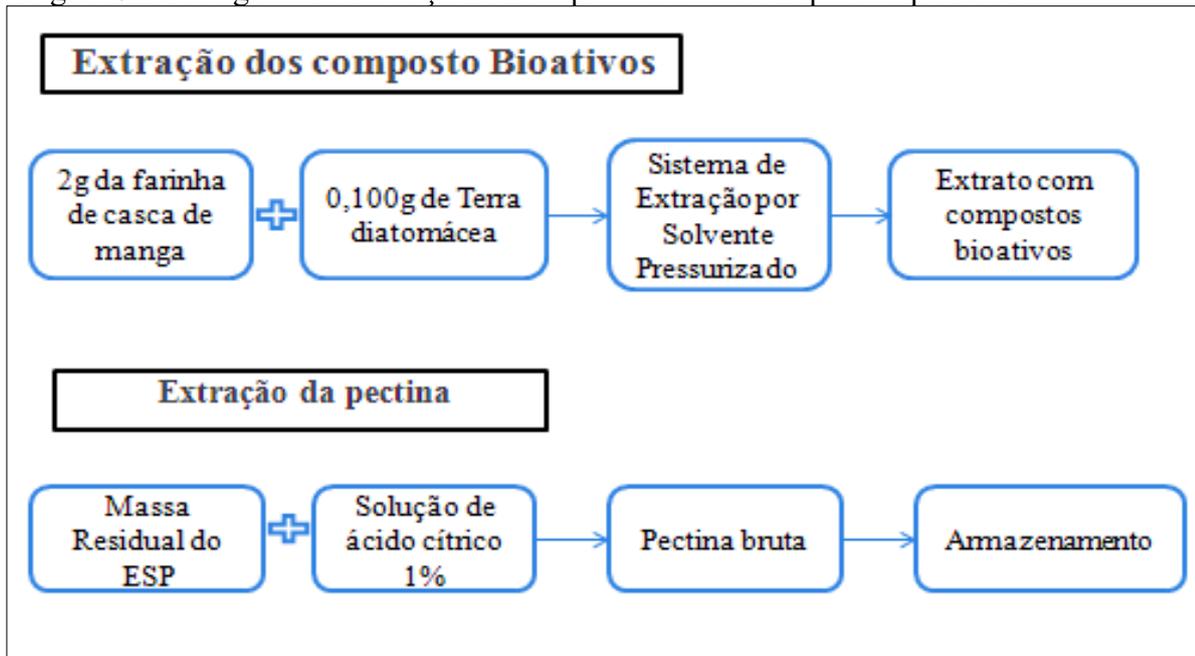
A extração de pectina foi realizada sequencialmente após a extração dos compostos fenólicos. Da massa residual do soxhlet foi extraída a pectina pela técnica de extração assistida por ultrassom (EAU), conforme a descrição de Souza, (2015a) e a Figura 6. Já a massa residual do ESP, foi extraído a pectina após a extração de fenólicos na condição a 80°C, por 10 min (Figura 7).

Para a etapa de precipitação foi utilizado como solvente extrator o ácido cítrico 1%, conforme a metodologia descrita por Munhoz; Sanjinez-Argandoña e Soares - Junior (2010) com adaptações. A amostra foi refrigerada a 4°C por 24h, filtrada em papel filtro. Ao filtrado contendo a pectina, adicionou-se etanol 95% na proporção 1:2 (v/v), respectivamente, de solução extratora e álcool. Após 1h de repouso, houve a precipitação da pectina. O gel formado foi separado por filtração, em seguida liofilizado e obteve-se a pectina seca.

Figura 6 - Fluxograma de extração da pectina após extração por Soxhlet.



Fonte: Autor, 2017.

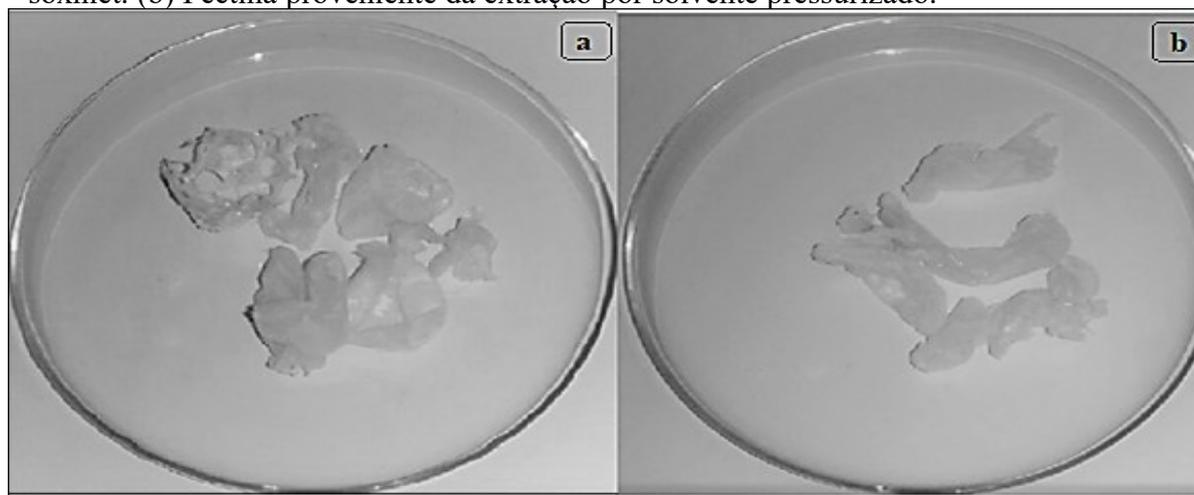


Fonte: Autor, 2017.

3.4.4 Ressonância Magnética Nuclear da Pectina (RMN).

Para a caracterização da pectina da casca de manga por Ressonância Magnética Nuclear foi realizado uma purificação da pectina seca, produto resultante a extração dos compostos fenólicos, por diálise contra água mili-q, por um período de 7 dias. Referência da membrana: MWCO1214KD - volume/comprimento: 18mL/cm - comprimento: 15m - largura: 75mm - diâmetro interno: 48mm (quando cheio), marca: Standart RC Turbing. A pectina purificada foi posteriormente liofilizada (Figura 8). As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente.

Figura 8 – Pectina purificada obtida das extrações. (a) Pectina proveniente da extração por soxhlet. (b) Pectina proveniente da extração por solvente pressurizado.



Fonte: Autor, 2017.

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em um equipamento Agilent DD2 de 600 MHz (para núcleo de ^1H) e equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”. As amostras foram preparadas dissolvendo-se 10 mg de pectina purificada em 500 μL de água deuterada com 1% de 2,2,3,3-d $_4$ -(3-trimetilsilil) -propionato de sódio (TSP) para calibração espectral. Os espectros unidimensionais de ^1H foram obtidos a 80°C, com um tempo de espera entre cada aquisição de 2 s, ajuste do ganho do receptor de 20, aquisição de 32 transientes em uma janela espectral de 16 ppm e 32k de número de pontos. Para auxiliar na atribuição dos sinais, foram realizados experimentos bidimensionais heteronucleares de ^1H - ^{13}C HSQC com sensibilidade de fase com 56 transientes, tempo de espera em cada aquisição de 1 s, janela em na dimensão do ^{13}C (F1) de 200 ppm e na dimensão do ^1H (F2) de 16 ppm, com números de pontos em F1 de 200 e F2 de 1974. Os sinais em preto, representam hidrogênios do tipo CH_3 e CH enquanto que os sinais em cinza, representam hidrogênios do tipo CH_2 .

3.5 Determinações analíticas

As determinações analíticas foram o rendimento em massa das extrações e pectina, polifenóis totais, quantificação da mangiferina, Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e análise estatística.

Os rendimentos dos extratos foram calculados de acordo com a Equação 1 e o rendimento da pectina conforme a Equação 2.

$$\text{Rendimento do extrato} = \frac{\text{Extrato}}{\text{Massa de farinha seca}} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

Extrato = massa de extrato após a extração seco em gramas;

Massa de farinha seca = Quantidade de amostra seca utilizada para a extração, no caso foram 2 g de farinha de casca de manga.

$$\text{Rendimento da pectina} = \frac{\text{Pectina extraída}}{\text{Massa de farinha seca}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

Extrato = massa de extrato após a extração seco em gramas;

Massa de farinha seca = Quantidade de amostra seca utilizada para a extração, no caso foram 2 g de farinha de casca de manga.

3.5.2 *Polifenóis Totais*

Para a determinação dos polifenóis totais, utilizou-se a metodologia descrita por Obanda e Ownor (1997) com adaptações. Como solução padrão, utilizou-se ácido gálico nas concentrações de 0,001 a 0,012 mg/mL em etanol 10%, onde com os valores de absorbância de cada concentração padrão foi lida e gerada uma curva de calibração. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por 100g de amostra,

Os extratos foram previamente diluídos em metanol grau HPLC, com alíquotas de variando de 25µL a 500µL, para a avaliação da concentração padrão para todas as condições de extrações. Em tubos de ensaios foram colocados 25µL das amostras e completado com 475µL de água destilada para o volume reacional de 0,5mL. Adicionou-se 0,5mL do reagente Folin-Ciocalteu e, após 3 min, 0,5mL de carbonato de sódio a 20% e 3,5mL de água destilada.

Descanso de 60 min em local escuro. Após o repouso, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro a 725nm.

3.5.3 Quantificação da mangiferina

Para a quantificação da mangiferina, foi utilizado em um sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo / PDA (Uv-vis) pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150µm x 2,1 mm, 1,7 mm), temperatura fixa de 40 °C, fases móveis água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% B (3 min), fluxo de 0,4 mL / min e volume de injeção de 2 uL.

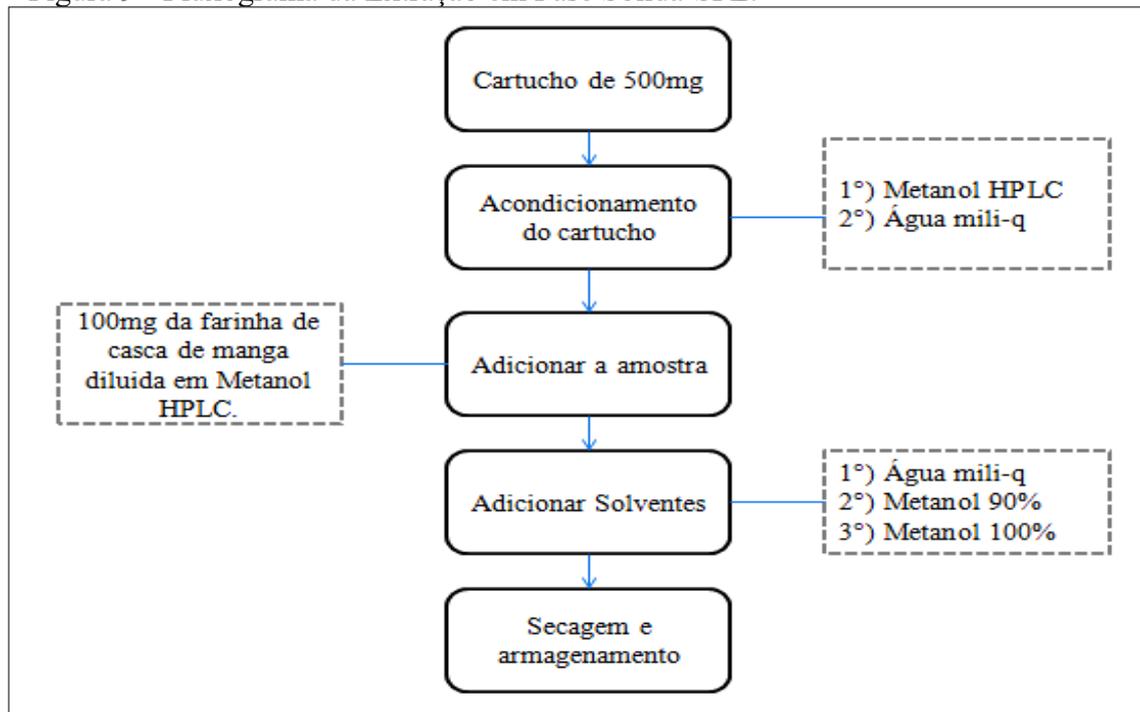
Para a determinação da quantidade de mangiferina, foram utilizados 22µL da amostra e diluídas com metanol grau HPLC em um balão volumétrico de 5mL, em seguida, aferido e homogeneizado. As soluções foram filtradas em filtros Millipore® de membrana de teflon com poro de 0,45 µm. As condições do equipamento foram: O modo SIR ESI⁺ na faixa de 110-1180 Da; temperatura da fonte fixa de 120°C; temperatura de dessolvatação 600°C; fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h e voltagem do capilar de 1,5 kV. O instrumento foi controlado pelo software Empower 3 (Waters Corporation).

3.5.4 Identificação dos compostos bioativos

- ETAPA I

Para a identificação dos compostos bioativos, foi realizada uma extração em Fase Sólida (SPE), utilizando o extrato metanólico da extração por soxhlet, como mostra o fluxograma (Figura 9) abaixo.

Figura 9 - Fluxograma da Extração em Fase Sólida-SPE.



Fonte: Autor, 2017.

- ETAPA II

Nesta etapa, a análise foi realizada em cromatografia líquida de ultra performance (UPLC-QTOF), em um sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo / Tempo de Voo (QTOF, Waters) pertencente à EMBRAPA. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150µm x 2,1 mm, 1,7 mm), temperatura fixa de 40 °C, fases móveis água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% B (15 min), fluxo de 0,4mL / min e volume de injeção de 5µL.

Para a identificação da amostra foi utilizado 5mg da amostra após o SPE e dissolvida em metanol grau HPLC. A amostra foi filtrada em filtro Millipore® de membrana de teflon com poro de 0,45 µm. As condições do equipamento foram: o modo ESI⁻ e ESI⁺ na faixa de 110-1180 Da; temperatura da fonte fixa a 120 °C; temperatura de dessolvatação 350 °C; fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h; cone de extração de 0,5 V; voltagem capilar de 2,6 kV. Leucina encefalina foi utilizada como *lock mass*. O modo de aquisição foi MS^E. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

Os parâmetros avaliados foram: linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão e repetibilidade de acordo com os procedimentos recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), descritos na Resolução nº899, de 29 de maio de 2003 e a Resolução nº 129, de 12 de fevereiro de 2016.

3.6.1 Linearidade

A linearidade de um procedimento analítico é a sua capacidade de obter resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (BRASIL, 2016). Para determinação da linearidade foram feitas análises de onze concentrações diferentes (1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 250; 500; 1000 e 2000 ng/mL) em triplicata e construída uma curva padrão que gerou uma equação da reta:

$$y = ax + b \quad (3)$$

Onde:

y é a variável dependente,
 x a variável independente,
 a o coeficiente angular e
 b o coeficiente linear.

O valor mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser = 0,99. Foram aplicados os testes estatísticos t-Student e teste F (para avaliar a significância do coeficiente angular) a um nível de confiança de 95 %, para dar uma maior confiabilidade aos dados da calibração da curva e regressão linear.

Para o teste t-Student temos que no caso $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}}$ o parâmetro será significativo a nível de confiança de 95%, devendo ficar na equação da reta, enquanto que caso do $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$ não há significância ao coeficiente analisado. Já para o teste F, valores onde $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$ não possuem significância a nível de confiança de 95%, no entanto caso $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ tiveram valores significativos, este teste estabelece se há ou não a existência da relação linear entre os eixos x e y , independentes dos valores para o coeficiente de correlação (r^2).

A Resolução nº 129, de 12 de fevereiro de 2016 relata que o Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. Já o limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O método visual foi utilizado na determinação para os LOD e LOQ deste estudo.

3.6.3 Precisão

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas da amostragem múltipla de uma mesma amostra, conforme descrito no método analítico a ser validado (BRASIL, 2003; BRASIL, 2016).

A precisão foi obtida em função dos desvios padrões e coeficientes de variação, conforme as equações 4 e 5 respectivamente.

$$S = \sqrt{\sum_{i=1}^n x_i^2} \quad (4)$$

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (5)$$

Onde:

S é o desvio padrão,

n o número de medidas,

x_i é a diferença entre cada valor medido e

\bar{x} é a média.

3.6.4 Repetibilidade

A repetibilidade expressa a fidelidade do método nas mesmas condições operacionais em um curto intervalo de tempo. Um ponto da curva de calibração de concentração conhecida, foi injetado 10 vezes seguidas. Os tempos de retenção e as áreas

obtidas foram usados para calcular o desvio padrão e os coeficientes de variação (descritas no tópico de precisão).

3.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram tratados por análises estatísticas. Para a *One Way* ANOVA, foi utilizado o programa Excel da Microsoft[®]. Os testes para diferença significativas foram determinadas pelo teste t de Student ao nível de confiança de 95% utilizando o programa Origin versão 8.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimentos dos extratos utilizando distintos solventes

De acordo com a Tabela 2, pode-se verificar que a solução de metanol, na extração por soxhlet, proporcionou um rendimento aproximadamente 10 vezes maior que do hexano, e 18 vezes maior que a do clorofórmio e acetato de etila. Já na ESP, o metanol também, possuiu rendimento em quantidade de 1,3 a 2,0 vezes maior quando comparado com os demais solventes.

Nesta fase inicial, o metanol revelou-se o solvente com maior afinidade, assim como na pesquisa de Souza *et al.* (2015a) com extrato etanólico para a extração dos compostos bioativos. Revelando que os solventes alcoólicos proporcionam um significativo aumento no rendimento de extrato quando comparado com outros tipos de solventes orgânicos, além de demonstrar que na casca de manga da variedade Tommy Atkins, tem em sua maioria compostos polares.

Tabela 2 - Rendimento em massa da extração por soxhlet e ESP.

Rendimentos em massa dos extratos (%)		
Solventes	Extração por Solvente Pressurizado - ESP	Extração Soxhlet
Hexano	3,28	3,41
Clorofórmio	1,21	1,85
Acetato de etila	1,50	1,76
Metanol	4,28	34,45

Fonte: Autor, 2017.

4.2 Rendimento e caracterização da pectina utilizando diferentes extrações

Os resultados de rendimento de pectina variaram de $8,17\% \pm 0,77$ a $2,38\% \pm 0,77$, pela técnica de ESP (extração por solvente pressurizado) e EAU (extração assistida por ultrassom) respectivamente. Ao avaliar estes rendimentos de ambas as técnicas (ESP e EAU), notou-se que não houve diferença significativa a 5% entre os métodos, indicando que a recuperação da pectina não foi influenciada pelas metodologias de extração dos compostos fenólicos (etapa anterior a extração de pectina).

A extração da pectina a partir do tecido vegetal, depende do emprego de ácidos, bases, compostos quelantes ou da utilização de enzimas, na qual ocorre em alta extratibilidade com ácidos orgânicos e agentes quelantes. Por isso, métodos alternativos de extração mais ecológicos, ou que promovem um menor custo de produção têm sido investigados. Estes métodos incluem a utilização de ácidos orgânicos como o cítrico e preparações enzimáticas, além das técnicas de extração como assistidas por micro-ondas, por solvente pressurizado e assistida por ultrassom (OLIVEIRA, 2013; WANG *et al.*, 2016)

Pandit *et al.* (2015) estudaram a extração de pectina em casca de manga com ácido cítrico, em que apresentou um rendimento de 8,20%, valor aproximado pelo estudado com o ESP e 3,44 vezes maior que o da técnica de EAU (utilizando a massa residual da extração por soxhlet).

Berardini *et al.* (2004) avaliaram a influência dos solventes na extração de pectina de casca de manga e notaram que a extração com ácido sulfúrico obteve o maior rendimento com 21%, enquanto que o estudo de Kauser *et al.*, (2015) com extração de pectina em casca de manga da variedade Chaunsa, pela técnica com ácido nítrico, apresentou um rendimento de 12,47%, ambas pesquisas realizadas foram superiores ao resultado pelas duas técnicas deste trabalho. (2004) avaliaram a influência dos solventes na extração de pectina de casca de manga e notaram que a extração com ácido sulfúrico obteve o maior rendimento com 21%, enquanto que o estudo de Kauser *et al.*, (2015) com extração de pectina em casca de manga da variedade Chaunsa com ácido nítrico, apresentou um rendimento de 12,47%. Ambas as pesquisas realizadas foram superiores aos resultados obtidos pelas duas técnicas neste trabalho.

Canteri (2010) obteve as melhores condições de grau de esterificação e propriedades reológicas com o ácido cítrico, comparando-o aos ácidos nítrico e sulfúrico. Nascimento (2014) relata que o processo industrial de extração de pectina é realizado

frequentemente com ácido clorídrico e sulfúrico, porém estes ácidos são altamente poluentes, o que ressalta a importância de estudos com a melhor condição de extração com ácido cítrico para a obtenção de uma pectina de alto grau de esterificação que seja viável e que gere o mínimo de poluentes para a indústria e meio ambiente.

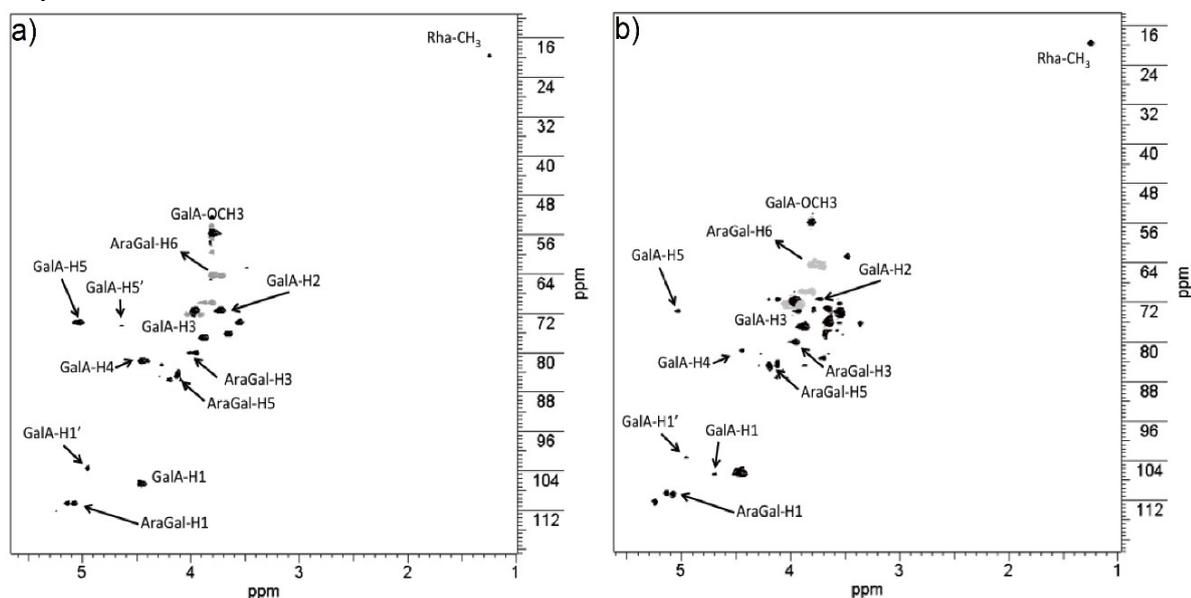
Um outro fator é que os ácidos orgânicos apresentam a vantagem sobre os ácidos minerais por degradarem menos a estrutura da pectina e por serem mais benéficos do ponto de vista ambiental e econômico.

4.3 Caracterização do polímero péctico por ressonância magnética nuclear (RMN).

A composição das pectinas variam de acordo com a fonte pela qual ela foi isolada bem como as condições utilizadas para seu isolamento e purificação. Pectinas com baixo grau de metoxilação formam géis na presença de íons cálcio enquanto que pectinas com alto grau de metoxilação tendem a forma géis com a adição de açúcares (PILGRIM, WALTER e OAKENFULL, 1991). Assim a RMN se apresenta como uma valiosa técnica, pois informações sobre a composição química, bem como o grau de metoxilação podem ser obtidos de maneira rápida e sem a aplicação de extenuantes metodologias no preparo da amostra para a análise comumente utilizada (CHENG e NEISS, 2012; ROSENBOHM *et al.*, 2003)

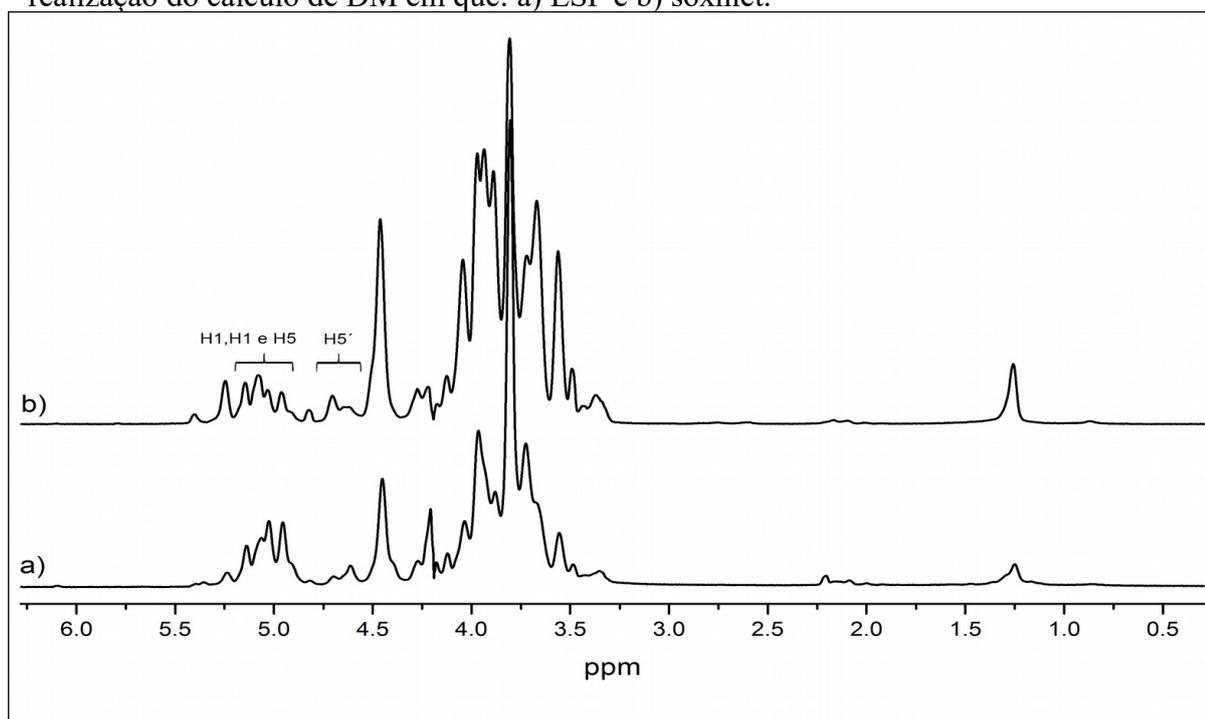
Na Figura 10 estão apresentados os espectros de RMN de ^1H - ^{13}C de HSQC com as atribuições dos sinais do ácido galacturônico para o polímero péctico extraído com o ESP (Figura 10a) e com o soxhlet (Figura 10b). A atribuição dos principais sinais estão descritas a seguir. Sinais em torno de 5.0/100 ppm foram observados para os espectros de ambas as amostras e correspondem ao H-1/C1 de unidades esterificadas de ácido α -galacturônico (GalA-H1). O sinal em 56 ppm pode ser atribuído ao ácido α -galacturônico esterificado com grupos metilénicos (GalA-OCH₃) (WESTERENG *et al.*, 2008). Também foram observados resíduos de arabinogalactanas (AraGal), segundo Moore, Farrant e Driouich (2008) este composto está comumente presente na parede celular primária dos frutos como cadeias laterais do polissacarídeo péctico (AraGal-H1), além de serem observados também resíduos de rafinose (Rha-CH₃) inerentes às ramnogalacturanas. Pode-se observar ainda que o ESP resultou em um polímero péctico com menos resíduos de sinais na região de carboidratos o que indica uma maior pureza de tal polímero.

Figura 10- Espectro de RMN ^1H - ^{13}C HSQC e as respectivas atribuições da pectina isolada da casca de manga utilizando o a) ESP e b) Soxhlet. Os sinais em preto, representam hidrogênios do tipo CH_3 e CH enquanto que os sinais em cinza, representam hidrogênios do tipo CH_2 .



A RMN de ^1H tem sido muito utilizada na determinação do grau de metilação (GM) de pectinas. O GM resulta na porção de grupos éster, relativo a quantidade total de carboxilas presente. Para tanto a região de 4,86 a 5,22 inerente aos hidrogênios anoméricos (H1 e H1') e ao hidrogênio H5 adjacente ao grupo COOCH_3 este é integrada e a ela descontada o sinal inerente ao hidrogênio H5', adjacente ao grupo COO^- . Na Figura 11a é apresentado o espectro de ^1H RMN do polímero pectíco obtido com o ESP e Figura 11b, o polímero pectíco obtido com a extração por soxhlet, bem como uma indicação dos sinais integrados obtidos para a realização do cálculo de DM. Através deste cálculo, podemos inferir que o polímero pectíco é dotado de um grau de metilação de 60,1% para a extração com o ESP e 40,0% para a extração com o soxhlet (utilizando a técnica de EAU sequencialmente).

Figura 11- Espectro de RMN ^1H com a indicação dos hidrogênios integrados para a realização do cálculo de DM em que: a) ESP e b) soxhlet.



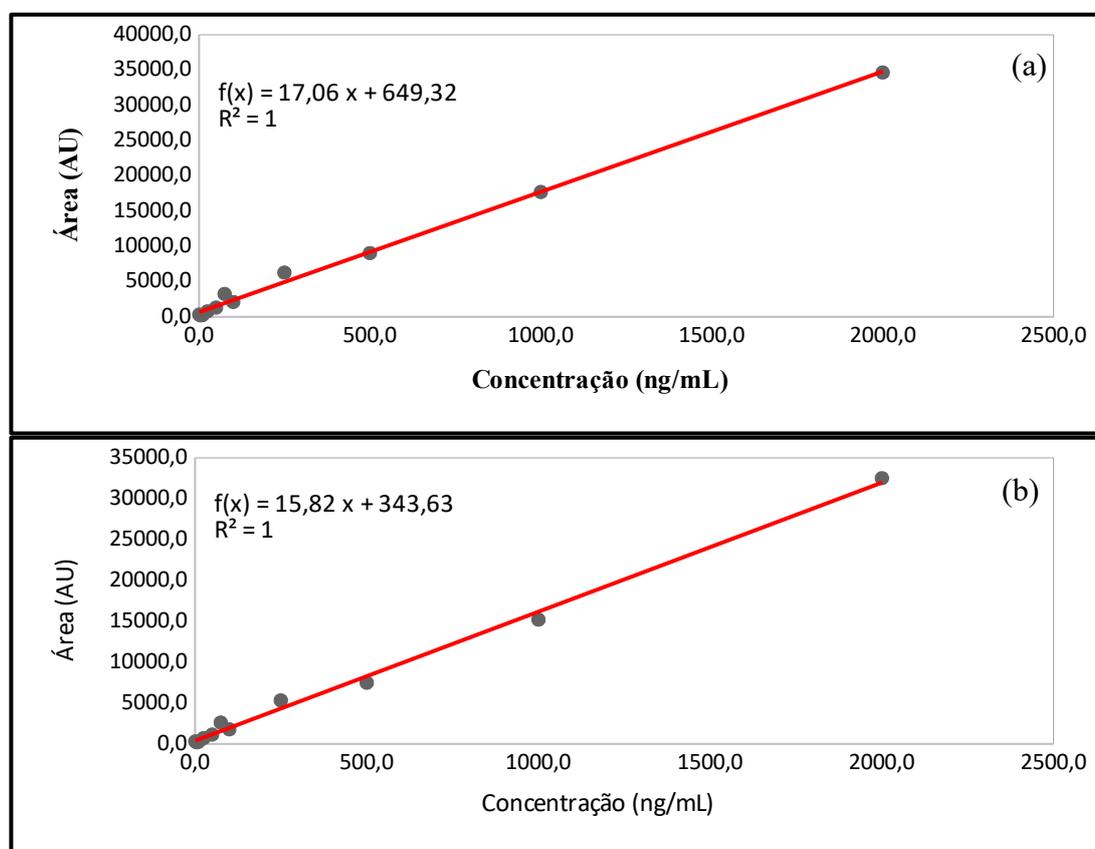
De acordo com Trovatti *et al.*, (2016) as pectinas são subdivididas em duas classes, uma com alto grau de metoxilação (>50%), HMP, e a outra com baixo grau de metoxilação (<50%), LMP. Comercialmente, as pectinas com alto grau de metoxilação apresentam teores na faixa 55 a 75%, já nas de baixo grau de metoxilação, esses teores variam na faixa 15 a 45%, observando-se então que a pectina extraída por ESP apresentou um alto grau de metoxilação enquanto por soxhlet um baixo grau de metoxilação. Koubala *et al.* (2008) estudaram a extração de pectina das cascas de mangas das variedades Améliorée e Mango cultivadas nos Camarões, as quais se mostraram na faixa de 52 a 86%, apresentando um alto grau de metoxilação.

Segundo Trovatti *et al.*, (2016) as pectinas tem sido investigadas não apenas para melhorias na indústria de alimentos, mas recentemente ocorrem estudos na vetorização de genes, na cicatrização de feridas, no direcionamento (targeting) de fármacos no tratamento do câncer e na modificação da superfície de dispositivos médicos. Através dos resultados observa-se que há uma importância na busca de aplicações inovadoras da pectina de acordo com as diferentes necessidades globais.

4.4.1. Linearidade, limite de detecção(LOD) e limite de quantificação(LOQ).

A curva analítica de calibração foi construída com 11 diferentes pontos de concentração (1 a 2000 ng/mL) de mangiferina. A Figura 12 mostra a linearidade dentro do intervalo em análise, sendo confirmado pelo valor do coeficiente de correlação da equação da curva analítica do padrão intra-dia ($y = 17,06x + 649,32$; $r^2 = 0,9960$) e inter-dia ($y = 15,815x + 343,63$; $r^2 = 0,9957$). A norma RE nº 899 da ANVISA indaga que o r^2 tem que ser igual ou maior que 0,99, logo nos resultados constam valores aceitáveis conforme a legislação (Brasil, 2003).

Figura 12- Gráficos de linearidade: (a) Curva de calibração do padrão intra-dia (n=11); (b) Curva de calibração do padrão inter-dia (n=11).



Fonte: Autor, 2017.

A Tabela 3 mostra a significância do teste t-Student para os parâmetros de calibração da curva e a significância do teste F para regressão linear, assim conferindo maior confiabilidade aos dados da curva, em que todos os testes foram analisados a um nível de confiança de 95 %. Observa-se que na equação $y = 15,815x + 343,63$, o coeficiente linear não é significativo, o que torna a equação final assim $y=15,815x$. Já os limites de detecção e quantificação obtidos foram de 1,0 ng/mL e 5 ng/mL respectivamente, observados pelo método visual.

Tabela 3- Resultados estatísticos para regressão linear da curva analítica de calibração do padrão, teste F e teste t-Student a um nível de confiança de 95 %.

Padrão	Coeficiente Angular			Equação da curva Analítica
	a	t _{calculado}	t _{crítico (95%)}	
Mangiferina	342,6	42,86	2,26	Significativo
	Coeficiente Linear			y=15,815x
	b	t _{calculado}	t _{crítico (95%)}	
	15,8	1,46	2,26	Não significativo
	F _{calculado}	F _{crítico}	Teste F	
22382,6	475	Significativo		

Fonte: Autor,2017

4.4.2. Precisão

De acordo com a RE nº899 da ANVISA, o valor máximo admitido é igual ou inferior a 5%. Neste estudo a precisão foi avaliada de acordo com os coeficientes de variação (CV) e coeficiente de correlação (r^2) obtidos através dos valores dos tempos de retenção das curvas analisadas e obtidas nos ensaios inter-dia e intra-dia. Os resultados obtidos foram para as injeções intra-dia e inter-dia de $r^2 = 0,9960$; CV = 0,07 % e $r^2 = 0,9957$; CV = 0,67 %, respectivamente. Logo os coeficientes de variação estão de acordo com o valor máximo estabelecido pela legislação, mostrando sua precisão no método.

4.4.3 Repetibilidade

Os valores dos coeficientes de variação (CV) foram obtidos a partir das 10 injeções consecutivas de uma mesma concentração conhecida, tendo resultados para os

parâmetros de tempo de retenção e área do pico, sendo o CV de 0,04 e 1,77 %, respectivamente. Os Coeficientes de Variação calculados demonstram que o método não sofre influências do período em que é realizado, uma vez que o CV ou DPR máximo permitido pela legislação é de 5 % (RDC nº 899 de 29 de maio de 2003).

4.5 Identificações dos compostos bioativos

A cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC – Q-TOF) realizada no extrato metanólico na proporção 90:10 (extrato/água) após o processo de SPE (modo negativo) foi utilizada na tentativa de identificação de compostos fenólicos presentes na casca de manga, a partir de dados das massas moleculares encontrados na literatura e subsequente comparação com dados obtidos na análise. Foram identificados possíveis 16 compostos. Seus picos estão representados na Figura 13 e na Tabela 4.

Dorta et al. (2014) relata que os compostos derivados das benzofenonas, como a maclurina-3-C-(2-O-galoil)- β -D-glucoside apresentada no pico 4, são compostos intermediários na via biossintética das xantonas. Em seguida apresenta-se a mangiferina no pico 6, na qual foi quantificada. A mangiferina é uma xantona do grupo restrito de polifenóis e semelhante aos bioflavonóides, de acordo com Dorta *et al.* (2014). Gómez-Caravaca *et al.* (2016) e Canuto (2009) relataram que esta xantona possui propriedades antioxidante, anti-inflamatória, hipoglicemiante, imunomodulatória, sendo utilizada na indústria farmacêutica e alimentícia.

No estudo realizado por Dorta et al. (2014), em que estudou casca de manga de três variedades, também encontrou a presença de compostos galatos e galotaninos, tais como ácido gálico (pico 3), tetra-O-galoyl-glicosídeo (picos 8 e 9), penta-O-galoyl-glicosídeo (pico 11) e digalato metil (pico 13).

O tetra-O-galoyl-glicosídeo neste estudo apresentou-se em dois possíveis tempos de retenção, 3.90 e 3.98, com o seu ppm de acordo com o que a literatura estabelece. O hexa-O-galloyl-glicose (pico 12) foi detectado por Gómez-Caravaca *et al.* (2016), que realizou a identificação de compostos fenólicos na manga da variedade keitt, os autores verificaram que este composto está presente na casca úmida e seca, na amêndoa e na polpa, porém sendo quantificado na casca seca e amêndoa. Dufour *et al.* (2016) descreveu que metil galato (pico5) e galoyl-sacarose (pico2) possui, em um meio micelar e em altas concentrações podem exercer atividade antiperoxidação essencial para evitar a degeneração rápida em óleos.

Os ácidos fenólicos podem se ligar entre si ou com outros compostos, onde a combinação mais importante destes ácidos ocorre com o ácido caféico associado a um álcool-ácido cíclico, denominado ácido quínico (pico 1), origina o ácido clorogênico, este utilizado na indústria cosmética tratamento da pele por causa da sua ação antioxidante (SOARES, 2002). De acordo com Gómez-Caravaca *et al.* (2016) foi observado que a maior quantidade de ácido quínico corresponde a casca seca na manga. Landete, (2011) relata que o ácido elágico (pico 10) e seus derivados possuem uma ampla gama de atividades biológicas, metabólitos possuindo funções antioxidantes, atividades estrogênicas e / ou antiestrogênicas e efeitos anti-inflamatórios e prebióticos, tendo impacto benéfico sobre a saúde humana.

As saponinas como a encontrada no pico 16 (saponina de soja) são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionados, principalmente, com o sistema de defesa. Com sua propriedade surfactante é utilizada na indústria alimentícia como flavorizante e agente espumante (CASTEJON, 2011). A saponina de soja, segundo () possui efeito anti-inflamatório, anti - mutagênico, anti - carcinogênico e hepatoprotetor (GUANG *et al.*, 2014).

Os flavonóides são compostos fenólicos que constituem uma parte significativa de uma dieta saudável e benéfica à saúde, devido ao seu potencial antioxidante e anti-inflamatório. No presente estudo foi identificado o flavonóide hexosídeo de rhamnetina, presente no pico 15, também encontrado na casca de manga em outras variedades, como no estudo de Dorta *et al.* (2014) e Gómez-Caravaca *et al.*, (2016) com a variedade da manga Keitt.

Figura 13 – Perfil cromatográfico do extrato metanólico na proporção 90:10 de metanol/água, respectivamente.

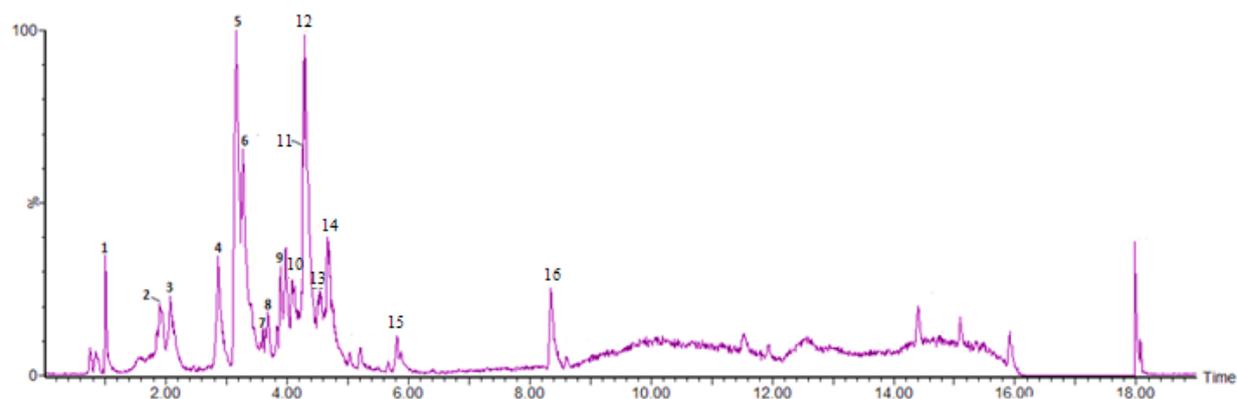


Tabela 4 – Identificação de compostos encontrados no extrato metanólico na proporção 90:10 de metanol/água, respectivamente.

Nº do Pico	Rt (min)	[M-H] ⁻ Observado	[M-H] ⁻ Calculado	Íons (MS/MS)	Formula Empírica	Ppm (erro)	Nome do Composto	Referências
1	1.01	191.0556	191.0556	-	C ₇ H ₁₁ O ₆	0.0	Ácido quínico	(GÓMEZ-CARAVACA <i>et al.</i> , 2016)
2	1.90	493.1200	493.1193	331.0757, 313.0566, 169.0148, 125.0227	C ₁₉ H ₂₅ O ₁₅	1.4	Galoyl-sacarose	(LI <i>et al.</i> , 2016b)
3	2.08	169.0136	169.0137	125.0223	C ₇ H ₆ O ₅	0.6	Ácido gálico*	(DORTA <i>et al.</i> , 2014)
4	2.91	575.1037	575.1037	423.0968, 303.0515, 261.0400	C ₂₆ H ₂₃ O ₁₅	0.0	Maclurina-3-C- (2-O-galoil) -β-D-glicosídeo	(DORTA <i>et al.</i> , 2014)
5	3.17	183.0296	183.0293	124.0109	C ₈ H ₇ O ₅	1.6	Metil galato	(DORTA <i>et al.</i> , 2014)
6	3.28	421.0763	421.0771	331.0464, 301.0339	C ₁₉ H ₁₇ O ₁₁	1.9	Mangiferina*	(DORTA <i>et al.</i> , 2014; BERARDINI <i>et al.</i> , 2004)
7	3.83	573.0878	573.0880	421.0763, 301.0329, 169.0123	C ₂₆ H ₂₁ O ₁₅	0.3	Galato de mangiferina	(BERARDINI <i>et al.</i> , 2004)
8	3.90	787.0994	787.0994	635.0968, 617.0886, 465.0721, 313.0357, 169.0120	C ₃₄ H ₂₇ O ₂₂	0.0	Isômero de Tetra-O-galoyl-glicosídeo	(DORTA <i>et al.</i> , 2014)
9	3.98	787.0989	787.0994	635.0946, 617.0734, 465.0640, 313.0480, 169.0121	C ₃₄ H ₂₇ O ₂₂	0.6	Isômero de Tetra-O-galoyl-glicosídeo	(DORTA <i>et al.</i> , 2014)

10	4.08	300.9980	300.9984	-	C ₁₄ H ₅ O ₈	1.3	Ácido elágico*	(DORTA <i>et al.</i> , 2014; GÓMEZ-CARAVACA <i>et al.</i> , 2016)
11	4.26	939.1091	939.1104	787.1003, 769.0849, 635.0978, 617.0858, 169.0105	C ₄₁ H ₃₁ O ₂₆	1.4	Penta-O-galoyl- glicosídeo	(BERARDINI <i>et al.</i> , 2004; DORTA <i>et al.</i> , 2014; GÓMEZ-CARAVACA <i>et al.</i> , 2016)
12	4.52	1091.1254	1091.1213	939.1134, 787.1049, 769.0983, 635.1048, 617.0916, 169.0127	C ₄₈ H ₃₅ O ₃₀	3.8	Hexa-O-galoyl-glicosídeo	(BERARDINI <i>et al.</i> , 2004; GÓMEZ-CARAVACA <i>et al.</i> , 2016)
13	4.65	335.0392	335.0403	183.0239, 168.0052, 124.0141	C ₁₅ H ₁₁ O ₉	3.3	Digalato metil	(LI <i>et al.</i> , 2016a)
14	5.21	907.1207	907.1207	737.1141, 169.0141	C ₄₁ H ₃₁ O ₂₄	0.2	Derivado de ácido gálico	-
15	5.84	477.1019	477.1033	315.0514, 314.0428	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₂	2.9	Hexosídeo de Rhamnetina	(DORTA <i>et al.</i> , 2014; GÓMEZ-CARAVACA <i>et al.</i> , 2016)
16	8.35	941.5113	941.5110	-	C ₄₈ H ₇₇ O ₁₈	0.3	Saponina de soja I	--

* Identification by standard

Fonte: Autor, 2017.

4.6 Polifenóis Totais

As análises de polifenóis totais apontam que na ESP (extração por solvente pressurizado), o etanol/água na proporção 50:50 (v/v), destacou-se dentre os demais como mostra a Tabela 5. Apresentando um teor de polifenóis de 74mg/100g de farinha de casca de manga (Figura 14a) e indicando a melhor condição para um aumento considerável da recuperação de compostos fenólicos. Observou-se que não houve diferença significativa à 5%, dentre as médias de 60, 70,80 e 90°C, na proporção de 50% de etanol, em que a de 70°C se destaca como maior valor.

Notou-se que na proporção seguinte de 40% de etanol (Figura 14a), à temperatura de 70°C, ocorreu um decréscimo na obtenção de compostos fenólicos. Segundo Souza, (2015a) uma observação a ser considerada, é que o teor de polifenóis totais não está representando a totalidade de compostos contidos em massa obtido nas extrações, sugerindo que no extrato ainda existem outras moléculas que não sejam fenólicos como as xantonas.

Tabela 5- Quantidade de polifenóis totais na extração por soxhlet e ESP.

Extração Soxhlet (mg EAG/100g amostra**)						
1.983,65 ± 0,01						
Extração ESP – Fenólicos totais (mg EAG/100g de amostra**)						
Solvente	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
Etanol 80%	24,64 ± 4 ^a	35,94 ± 4 ^a	43,02 ± 5 ^a	51,25 ± 2 ^a	52,43 ± 3 ^a	50,44 ± 1 ^a
Etanol 70%	41,11 ± 7 ^a	47,72 ± 4 ^a	53,20 ± 2 ^a	60,80 ± 6 ^a	61,86 ± 8 ^a	57,36 ± 3 ^a
Etanol 60%	41,99 ± 2 ^a	53,04 ± 3 ^a	39,31 ± 1 ^a	58,23 ± 3 ^a	69,81 ± 2 ^a	69,44 ± 0 ^a
Etanol 50%	57,87 ± 2 ^{ab}	55,50 ± 2 ^b	69,38 ± 1 ^{ac}	74,00 ± 0,45 ^c	62,88 ± 2 ^{abc}	71,24 ± 0 ^{ac}
Etanol 40%	51,92 ± 2 ^a	61,31 ± 0 ^a	66,97 ± 9 ^a	69,00 ± 0,56 ^a	58,43 ± 2 ^a	55,66 ± 1 ^a

* Médias com a mesma letra não diferem significativamente, na posição horizontal, em relação às temperaturas para cada solvente de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$).

**Valor da amostra como base seca.

O aumento da temperatura auxilia de forma positiva a extração de compostos fenólicos, pois favorece a solubilidade destes compostos facilitando a sua recuperação. Tal efeito deve-se ao aumento do coeficiente de difusão, além do decréscimo da viscosidade e tensão superficial (GUERRA, GARCIA e SILVA, 2016; SILVA *et al*, 2007). Tabaraki, Heidarizadi e Benvidi (2012), relataram que o aquecimento de extratos vegetais pode hidrolisar os compostos fenólicos ligados a parede celular do tecido vegetal, conseqüentemente aumentando sua solubilidade e facilitando sua remoção.

A aplicação de altas temperaturas no ESP intensifica a transferência de massa do analito no solvente, resultando em processos de extração mais rápidos e eficientes. Ajuda a quebrar as interações matriz-analito, diminuindo a energia de ativação do processo de dessorção permitindo assim a penetração do solvente na matriz, o umedecimento da amostra e a formação de cavidades do solvente (FERNANDÉZ-PONCE *et al*, 2015).

Já o efeito da concentração do solvente na extração, Guerra, Garcia e Silva (2016) estudaram a variação de concentrações de solvente de etanol na extração de compostos fenólicos em casca de manga Tommy Atkins, e observaram que a proporção de 50% de etanol obtivera uma melhor condição, assim como este estudo. Palmeira, Gois e Souza (2012) atribuem a esta ser a melhor condição de extração em casca de manga, pois este comportamento está relacionado a solubilidade e polaridade dos diferentes compostos fenólicos em água e álcool. Segundo Fernández-Ponce *et al*, (2015) a eficiência das misturas de solventes se deve ao fato de que um solvente poder melhorar a solubilidade do analito, enquanto o outro solvente pode aumentar a dessorção do analito. Além disso, as misturas hidro-alcoólicas são mais favoráveis tanto na conservação ambiental, como são mais vantajosas em seu manuseio.

Segundo Melo e Araújo, (2011) existem fatores, além do efeito da temperatura e solvente, que influenciam na quantidade de polifenóis, são eles: condição de extração, tipo de solo, grau de maturidade, genética do fruto, técnica utilizada e entre outros. Sellamuthu *et al.*, (2013) estudaram os polifenóis de 6 tipos de cultivares de manga da província de Limpopo na África de Sul, os autores obtiveram um teor de polifenóis na polpa da fruta variando de 30mg EAG/100 g de fruta, para a variedade Tommy Atkins, a 76mg EAG/100 g de fruta para a variedade Sabre. Nota-se que o teor de compostos fenólicos na casca da Tommy Atkins é superior ao da polpa, enquanto a variedade Sabre tem um valor aproximado ao deste trabalho.

Para a extração por soxhlet, Fanhani *et al.*, (2015) realizaram um estudo de extração feita pela técnica por soxhlet com etanol de compostos fenólicos na variedade Tommy Atkins, e encontraram um teor de polifenóis totais de 1737,50mg EAG/100g de farinha de casca de manga; valor 1,14 vezes menor do que o encontrado neste estudo.

Tabela 6- Quantidade de polifenóis totais com a variável tempo para ESP.

Polifenóis totais da Extração por Solvente Pressurizado – ESP**	
Tempo (min)	mg EAG/100g de amostra***
3	49,55 ± 6,36 ^a
5	56,46 ± 5,41 ^{ab}
10	59,98 ± 4,31 ^{ab}
15	63,62 ± 1,52 ^b

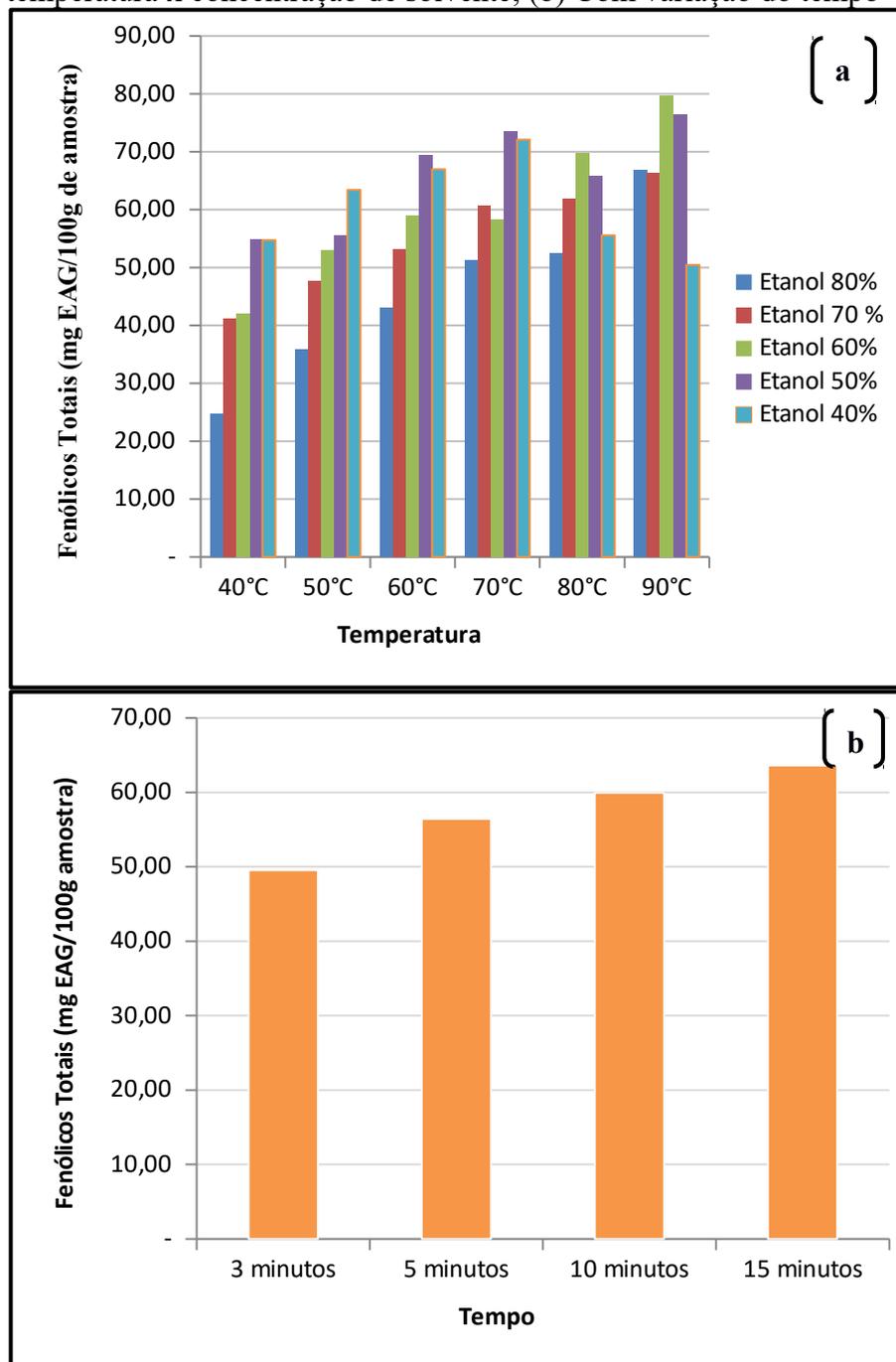
* Médias com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

** Extração realizada com etanol 50% a 80°C.

*** Valor da amostra como base seca.

Para analisar a variável tempo no ESP, na melhor condição da extração de mangiferina (estudo a ser discutido posteriormente), sendo etanol 50% na proporção e a temperatura a 80°C, assim padronizando a variável tempo para a extração de polifenóis e xantonas. Na extração observou-se que houve um acréscimo de aproximadamente 28% de polifenóis à medida que o tempo aumentou (Figura 14b). Não houve diferença significativa entre os tempos de 5, 10 e 15min (Tabela 6), demonstrando que a melhor condição seria a de 15 min, pois possui o maior valor. Guerra, Garcia e Silva (2016) relatam que o tempo foi a variável que apresentou maior efeito na extração de compostos fenólicos em seu estudo (o tempo de contato entre o solvente e a casca de manga) facilitando a penetração do solvente na amostra, conseqüentemente, a extração dos compostos fenólicos. De acordo com Yingngam, Supaka e Rungseevijitprapa (2015) tempos reduzidos de extração não permitem a penetração eficiente do solvente no extrato, impedindo a extração dos compostos de interesse. Uma observação a ser notada aos resultados é que seria necessário um estudo contínuo no futuro, do efeito do tempo na extração de compostos fenólicos deste trabalho.

Figura 14 - Gráficos com quantidade de fenólicos totais obtido da extração por solvente pressurizado – ESP: (a) Com variação da temperatura x concentração de solvente; (b) Com variação do tempo*.



*Na condição de etanol 50% à temperatura de 80°C.

Souza, (2015a) relata que uma razão importante do estudo do teor de fenólicos em casca de manga, é que a análise revela a sua aplicabilidade em inúmeras funções na indústria alimentícia, farmacêutica ou cosméticas.

Os resultados obtidos na quantidade de mangiferina na casca de manga da variedade Tommy Atkins, estão presentes na Tabela 7, em que se estudou o efeito da temperatura com a concentração de solvente e a Tabela 8 que verificou o efeito da variável tempo na extração da xantona. A Figura 15 apresenta o comportamento gráfico dos resultados das tabelas estudadas abaixo.

Tabela 7-Quantidade de mangiferina na extração por soxhlet e ESP.

Extração Soxhlet (mg de mangiferina / g de matéria seca)						
2,14±0,05						
Extração ESP – (mg de mangiferina / g de matéria seca)						
Solvente	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
Etanol 80%	0,75 ± 0,23 ^a	0,87 ± 0,04 ^{ab}	1,06 ± 0,03 ^{ab}	1,23 ± 0,06 ^b	1,21 ± 0,04 ^b	1,91 ± 0,07 ^c
Etanol 70%	1,28 ± 0,25 ^a	1,56 ± 0,20 ^a	1,46 ± 0,28 ^a	1,68 ± 0,13 ^a	1,43 ± 0,18 ^a	1,68 ± 0,36 ^a
Etanol 60%	1,21 ± 0,11 ^a	1,44 ± 0,10 ^a	1,61 ± 0,09 ^{ab}	1,58 ± 0,01 ^{ab}	2,82 ± 0,94 ^b	1,98 ± 0,01 ^{ab}
Etanol 50%	2,98 ± 0,24 ^a	2,81 ± 0,07 ^a	2,79 ± 0,02 ^a	3,39 ± 0,21 ^a	3,50 ± 1,84 ^a	1,78 ± 0,17 ^a
Etanol 40%	1,52 ± 0,03 ^a	2,90 ± 0,08 ^a	1,79 ± 0,14 ^a	1,60 ± 0,06 ^a	1,47 ± 0,15 ^a	1,40 ± 0,06 ^a

* Médias com a mesma letra não diferem significativamente em relação às temperaturas para cada solvente utilizadas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Observou-se que a solução etanol/água na proporção de 50:50 (v/v) a 80°C na extração por ESP, foi a melhor condição do processo, em que consta o valor de 3,50mg de mangiferina / g de matéria seca. Esta condição mostrou-se sem diferença significativa com relação às demais temperaturas da proporção de 50% de etanol (Tabela 7).

Araújo *et al.*, (2014) em estudos de compostos fenólicos em casca de manga Tommy Atkins, relataram que a quantidade extraída foi de 2,88mg de mangiferina / g de matéria seca, valor 1,21 vezes menor que a encontrada na melhor condição da extração por ESP. Já Berardini *et al.*, (2004) estudaram 14 variedades de casca de manga e observaram que a Tommy Atkins apresentou um teor de 1,23mg de mangiferina/g de matéria seca, um valor 2,84 vezes menor que este estudo.

Luo *et al.*, (2012) sondaram cascas de manga de variedades vendidas na China, na qual a Tommy Atkins (LPM, como é conhecida no país) apresentou 7,49mg /g de matéria seca de mangiferina, superando a quantidade encontrada neste trabalho. Imran *et al.* (2016) isolaram a mangiferina proveniente da casca da variedade Tommy e adicionaram em drinks, e relataram que a casca de manga contém quantidades apreciáveis de mangiferina, este tendo

um potencial para ser utilizada como funcional e nutracêutica em vários produtos alimentares. Esta investigação não apresentou impacto ruim sobre o produto e exibiu boa aceitabilidade entre os provadores.

Hassan *et al.* (2011) abordaram que a espécie *Mangifera pajang* K. apresentou um teor de mangiferina superior (cerca de 4,8mg/g de peso seco) aos encontrados na espécie *Mangifera indica* L. Evidenciando que as espécies de *Mangifera* possuem diferentes níveis de quantidade de mangiferina.

A identificação de níveis de conteúdo de mangiferina é um resultado importante do ponto de vista tecnológico, tendo em conta que os subprodutos, como cascas e amêndoas, são geralmente descartados durante a manutenção de cultivo e no beneficiamento de manga. Estes subprodutos podendo ser usados como matéria-prima para obter compostos de alto valor adicionado e assim diminuir problemas de poluentes ambientais (LUO *et al.*, 2012).

Tabela 8- Quantidade de mangiferina com a variável tempo para ESP.

Mangiferina extraída por ESP**	
Tempo (min)	(mg de Mangiferina / g de matéria seca)
3	2,14 ± 0,24 ^a
5	2,49 ± 0,08 ^{ab}
10	2,39 ± 0,12 ^{ab}
15	2,61 ± 0,08 ^b

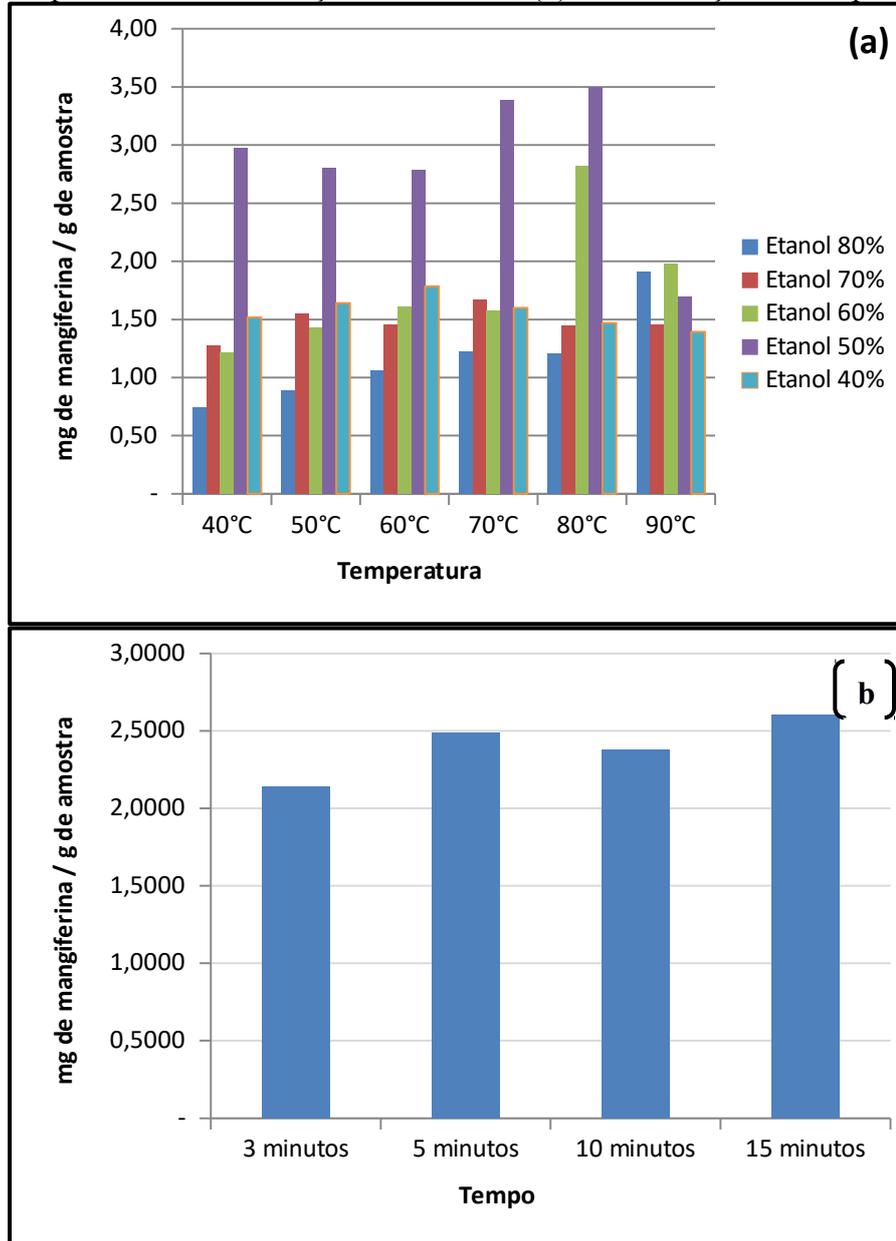
* Médias com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p>0,05).

** Extração realizada com etanol 50% a 80°C.

O aumento da temperatura faz com que haja um decréscimo da viscosidade e tensão superficial, facilitando a extração e a recuperação de compostos (GUERRA, GARCIA E SILVA, 2016; SILVA *et al.*, 2007), logo notou-se que a condição de 50% de etanol a 80°C, foi a melhor condição, sendo assim utilizada para avaliar o efeito de variação do tempo na extração de mangiferina.

Com relação a variável tempo, verificou-se que ocorreu um aumento de 22% na quantidade de mangiferina como demonstra a Figura 15b. Não houve diferença significativa entre os tempos de 5, 10 e 15 min (Tabela 8), observando que o maior valor foi o de 15 min com 2,61mg de mangiferina/ g de matéria seca.

Figura 15 - Gráficos com quantidade de mangiferina obtido da extração por solvente pressurizado – ESP: (a) Com variação da temperatura x concentração do solvente; (b) Com variação do tempo*.



5. CONCLUSÃO

Tendo em vista o presente trabalho, pode-se concluir que dentre os solventes pesquisados, o metanol se revelou promissor quanto a quantidade de compostos extraídos, pois proporcionou o maior rendimento (cerca de 34 %) dentre os demais solventes.

A casca de manga deve ser valorizado, pois se identificou uma variedade de compostos como galatos, galotaninos, flavonóides, xantona (mangiferina), derivado de benzofenonas (maclurina), ácidos fenólicos e orgânicos, que podem ser utilizados por indústrias farmacêuticas, cosméticas, químicas e de alimentos.

Para as extrações os resultados foram favoráveis para a extração por solvente pressurizado (ESP). Avaliando o efeito temperatura e solvente a melhor condição para os polifenóis totais foi com o solvente 50% a 70°C, com o teor de 74mg/100g de farinha de casca de manga, já para a quantidade de mangiferina foi com etanol 50% a 80°C, com o valor de 3,50mg de mangiferina /g de matéria seca, mostrando que misturas de álcool com água favorecem a extração de compostos da casca de manga da variedade Tommy Atkins.

Para a avaliação do efeito tempo, também na ESP, notou-se para os dois parâmetros (polifenóis totais e mangiferina) um acréscimo na sua quantidade à medida que se aumentou o tempo, levando-se em consideração a necessidade de um estudo a mais do efeito do tempo sobre estes dois parâmetros.

Os resultados da pectina mostram que esta substância pode ser recuperada sem sofrer alguma interferência da extração dos compostos fenólicos. A melhor técnica utilizada foi a ESP com o maior valor de 8,17% de rendimento. A caracterização do polímero pécico da casca de manga, demonstrou que o maior grau de metoxilação foi por ESP com 60,1%, além de ser um composto formado principalmente por ácido α -galacturônico e apresentar resíduos de arabinogalactanas.

REFERÊNCIAS

- AJILA, C.M.; JAGANMOHAN RAO, L.; PRASADA RAO, U.J.S. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extracts. **Food and Chemical Toxicology**. v. 48, n. 12, p. 3406–3411. 2010.
- ALARA, O. R.; ABDUL MUDALIP, S. K.; OLALERE, O. A. Optimization of Mangiferin Extracted from *Phaleria Macrocarpa* Fruits Using Response Surface Methodology. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 5, p. 82–87, 2017.
- ALI, M. R.; YONG, M.J.; GYAWALI, R.; MOSADDIK, A.; RYU, Y.C.; CHO, S.K. Mango (*Mangifera indica* L.) peel extracts inhibit proliferation of HeLa human cervical carcinoma cell via induction of apoptosis. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry** v. 55, n. 3, p. 397–405, jun. 2012.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. v. 6, p. 63–65 , 2018. Disponível em: <http://www.grupogaz.com.br/tratadas/eo_edicao/4/2016/04/20160414_0d40a2e2a/pdf/5149_2016fruticultura.pdf>.
- ARAÚJO, C. R.; BOTELHO, P. S.; SILVAC, T. M.S.; MACIELA, M. I. S.; MELOA, E. A. RYAN, S.; SMITH, R. E. Phenolic Compounds and Metals in Tommy Atkins Mango (*Mangifera indica* L) Peels. **The Natural Products Journal**. v. 4, p.2-7. 2014.
- ARAÚJO L.F.; AGUIAR, E.M.; SILVA, I.C.B; XAVIER, G.A.M.; BEZERRA, M.C.B. Utilização de subprodutos da manga como alimentos alternativos na dieta dos animais: revisão de literatura Resíduos agroindustriais, ruminantes, monogástricos. **Nutritime**. v. 13, n. 2. 2016.
- ARBOS, K. A.; STEVANI, P. C.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Ceres** v. 60, n. 2, 2015.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I.S.M.; RAHMAN, M.M.; SHARIF, K.M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M.H.A.; GHAFOOR, J.; NORULAINI, N.A.N.; OMA, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering** v. 117, n. 4, p. 426–436, ago. 2013.
- BANERJEE, J.; VIJAYARAGHAVAN, R.; ARORA, A.; MACFARLANE, D.R.; PATTI, A.F. Lemon Juice Based Extraction of Pectin from Mango Peels: Waste to Wealth by Sustainable Approaches. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**. v. 4, n. 11, p. 5915–5920. 2016.
- BERARDINI, N.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. ‘Tommy Atkins’) peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**. v. 18, p.2208–2216. 2004.

BORGES, K. C. Estudos das características físico-químicas e funcionalidade de bagaços de frutas tropicais desidratados em leito de jorro. UFRN, 2011. 138 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande Norte. 2011.

BRASIL. **Guia para Validação de Métodos Analíticos**. Resolução RE. n° 899, de 29 de maio de 2003.

BRASIL. **Guia para Validação de Métodos Analíticos**. Resolução RE. n° 129, de 12 de fevereiro de 2016.

CANTERI, M. H. G. **Caracterização comparativa entre pectinas extraídas do pericarpo de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis F. flavicarpa*)**. UFPA, 2010. 135 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2010.

CANUTO. K. M. **Propriedades Químicas e Farmacológicas de Mangiferina: Um Composto Bioativo de Manga (*Mangifera indica* L.)**. Técnico Petrolina: EMBRAPA-Semi árido, 2009. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/152169/1/SDC218.pdf>>

CAPELLINI, M. C. **Extração de Óleo de farelo de arroz utilizando solventes alcoólico: Avaliação de alterações na fração protéica e na composição do óleo**. USP, 2013. 135 f. Tese (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

CASTEJON, F. V. **Taninos e Saponinas**. Universidade Federal de Goiás. Disciplina: Seminários Aplicados. 2011. Disponível em: <https://portais.ufg.br/up/67/o/semi2011_Fernanda_Castejon_1c.pdf>.

CHENG, H. N., NEISS, T. G. **Solution NMR Spectroscopy of Food Polysaccharides**. *Polymer Reviews*. v. 52, n. 2, p. 81-114. 2012.

COSTA. J.G.; SANTOS. C. A. F. **Cultivo da Mangueira**. Técnico Embrapa Semi-Árido: Embrapa, jul. 2004. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/111770/1/Cultivo-da-Mangueira-Sistema-de-producao.pdf>>.

DING, Y.; ZHANG, W.; GU, C.; XAGORARAKI, I.; LI, H. Determination of pharmaceuticals in bio solids using accelerated solvent extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. v. 1218, n. 1, p. 10–16. 2011.

DORTA, E.; GONZÁLEZ, M.; LOBO M. G.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; ANCOS, B. Screening of phenolic compounds in by-product extracts from mangoes (*Mangifera indica* L.) by HPLC-ESI-QTOF-MS and multivariate analysis for use as a food ingredient. *Food Research International*. v. 57, p51–60. 2014.

DUFOUR, C.; DA SILVA E.; POTIER, P.; QUENEAU, Y.; DANGLES, O. Gallic Esters of Sucrose as Efficient Radical Scavengers in Lipid Peroxidation. *Journal Agricultural Food Chemistry*. v. 50, p.3425–3430. 2002.

ESPADA-BELLIDO, E.; FERREIRO-GONZÁLEZ, M.; CARRERA, C.; PALM, M.; BARROSO, C.G.; BARBERO, G.F. Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. **Food Chemistry** v. 219, p. 23–32. 2017.

FANHANI, A.; GUERRA, A. P.; GARCIA, V. A. S.; SILVA, C. Avaliação dos teores de compostos fenólicos em subprodutos do processamento de alimentos. 2015. Disponível em: <<http://www.eaic.uem.br/eaic2015/anais/artigos/575.pdf>>.

FELIPE, E.M.F.; COSTA, J. M. C.; MAIA G.A.; HERNANDEZ, F. F. H. Avaliação da qualidade de parâmetros minerais de pós-alimentícios obtidos de casca de manga e maracujá. **Alimentos e Nutrição Araraquara** v. 17, n. 1, p. 79–83. 2008.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. 2. ed. [S.l: s.n.], 2009.

FERNANDÉZ-PONCE, M. T.; CASAS, L.; MANTELL, C.; LA OSSA, E. M. Use of high pressure techniques to produce *Mangifera indica* L. leaf extracts enriched in potent antioxidant phenolic compounds. v. 29, p.94-106. 2015.

GARCIA-MENDOZA, M. P.; PAULA, J.T.; PAVIANI, L.C.; CABRAL, F.A.; MARTINEZ-CORREA, H.A. Extracts from mango peel by-product obtained by supercritical CO₂ and pressurized solvent processes. **LWT - Food Science and Technology** v. 62, n. 1, p. 131–137. 2015.

GIORDANI JUNIOR, R.; CAVALI, J.; PORTO, M.O.; FERREIRA, E.; STACHIW, R. Resíduos agroindustriais e alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia** v. 3, n. 1, p. 93–104. 2015.

GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; LOPEZ-COBO, A.; VERARDO, V.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNANDEZ-GUTIERREZ, A. HPLC-DAD-q-TOF-MS as a powerful platform for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part of mango and its by-products (peel, seed, and seed husk). **Electrophoresis** . v. 37, p.1072–1084. 2016.

GUANG, C.; CHEN, J.; SANG, S.; CHENG, S. Biological Functionality of Soyasaponins and Soyasapogenols: review. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 62, p.8247–8255. 2014.

GUERRA, A. P.; GARCIA, V. A. S.; SILVA, C. Optimization of extraction compounds phenolics from mango peel (Tommy Atkins) using ultrasound-assisted process. **E-xacta**. v. 9, n. 1, p.103-110. 2016.

HASSAN, F. A.; ISMAIL, A.; ABDULHAMID, A.; AZLAN, A. Identification and Quantification of Phenolic Compounds in Bambang (*Mangifera pajang* Kort.) Peels and Their Free Radical Scavenging Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, p. 9102–9111. 2011.

HUBER, K.; QUEIROZ, J.H.; MOREIRA, A.V.B.; RIBEIRO, S.M.R. Caracterização química do resíduo agroindustrial da manga ubá (*Mangifera indica* L.): uma perspectiva para a obtenção de antioxidantes naturais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial** v. 6, n. 1. 2012.

IMRAN, M.; MASOOD, S.B.; AKHTAR, S.; RIAZ, M.; IGBAL, M.J.; SULEIRA, H.A.R.S. Quantification of mangiferin by high-pressure liquid chromatography; Physicochemical and sensory evaluation of functional mangiferin drink: Mangiferin from mango peel. **Journal of Food Processing and Preservation** v. 40, n. 4, p. 760–769. 2016.

JAHURUL, M.H.A.; ZAIDUL, S.M.; GHAFOR, K.; AL-JUHAIMI, F.Y.; NYAM, K.L.; NORULAINI, N.A.N.; SAHENA, F.; OMAR A.K.M. Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. **Food Chemistry**. v. 183, p. 173–180. 2015.

KAUSER S.; SAEED A.; IQBAL M. Comparative studies on conventional (water-hot acid) and non-conventional (ultrasonication) procedures for extraction and chemical characterization of pectin from peel waste of mango cultivar chaunsa. **Pak. J. Bot.** v. 47, n. 4, p. 1527-1533, 2015.

KOUBALA, B. B.; KANSCI, G.; GARNIER, C.; MBOME, I. L.; DURAND, S.; THIBAUT, J-F.; RALET, M-C. Rheological and high gelling properties of mango (*Mangifera indica*) and ambarella (*Spondias cytherea*) peel pectins. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 44, n. 9, p. 1809-1817. 2009.

LANDETE, J.M. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health: Review. **Food Research International**. v. 44, p.1150–1160. 2011.

LUO, F., LV, Q., ZHAO, Y., HU, G., HUANG, G., ZHANG, J., SUN, C., LI, X. AND CHEN, K. Quantification and Purification of Mangiferin from Chinese Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars and Its Protective Effect on Human Umbilical Vein Endothelial Cells under H₂O₂-induced Stress. **International Journal of Molecular Sciences** v. 13, n. 12, p. 11260–11274, 2012.

MARQUES, A.; CHICAYBAM, G.; ARAÚJO, M.T.; MANHÃES, L.R.T.; SABAA-SRUR, A.U.O. Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*Mangifera indica* L.) CV. Tommy Atkins. **Revista Brasileira de Fruticultura** v. 32, n. 4, p. 1206–1210. 2010.

MATKOWSKI, A.; KUŚ, P.; GÓRALSKA, E.; WOŹNIAK, D. Mangiferin - a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant. **Mini Rev Med Chem**, v. 13, n. 3, p. 439–455. 2013.

MELO, E. A.; ARAÚJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e tommy atkins: compostos bioativos e potencial antioxidante. **Semina: Ciências Agrárias** v. 32, n. 4, p. 1451–1450, 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **BRASIL PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO 2015/2016 a 2025/2026**. 7. ed. Brasília: [s.n.], 2016. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf>.

MOORE, J. P., FARRANT, J. M., & DRIOUICH, A. A role for pectin-associated arabinans in maintaining the flexibility of the plant cell wall during water deficit stress. **Plant Signaling & Behavior**. v. 3, n. 2, p. 102-104. 2008.

- OBANDA, M.; OWNOR, P.O. Flavanol composition and caffeine content of green. , 1997
- OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A.; JOSÉ, E.; BECHARA, H.; BARROS, M.P.; MANO, C.M.; GOULART, M.O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**. v. 115, n. 2, p. 469–475. 2009.
- OLIVEIRA, A.N. Pectinas de casca de manga (*Mangífera indica* L.) cv. Ubá: Otimização da extração, caracterização físico-química e avaliação das propriedades espessantes e gelificantes. UFV, 2013. 151 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia em Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2013.
- PALMEIRA, S. M. V.; GOIS, L. M.; SOUZA, L. D. Extraction of phenolic compounds from mango peels. **Latin American Applied Research**. v. 42, n. 1, p.77-81. 2012.
- PANDIT, S. G.; VIJAYANAND, P.; KULKARNI, S. G. Pectic Principles of Mango Peel from Mango Processing Waste as Influenced by Microwave Energy. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1010–1014, 2015.
- PARNIAKOV, O.; BARBA, F.J.; GRIMI, N.; LEOVKA, N.; VOROBIEV, E. Extraction assisted by pulsed electric energy as a potential tool for green and sustainable recovery of nutritionally valuable compounds from mango peels. **Food Chemistry** v. 192, p. 842–848. 2016.
- PEDRASSOLLI, I.M.; JUNIOR, A.C.H.; PANDOLFI, M.A.C. Aproveitamento dos resíduos de manga das agroindústrias. In: III SIMTEC – Simpósio de Tecnologia da FATEC Taquaritinga. Disponível em: <www.fatectq.edu.br/simtec>. 2015.
- PILGRIM, G. W., WALTER, R. H., OAKENFULL, D. G. **Jams, Jellies, and Preserves**. In: **The Chemistry and Technology of Pectin**; Walter, R. H., Ed.; Academic Press: San Diego. p. 23 – 50. 1991.
- RAWDKUEN, S.; SAI-UT, S.; BENJAKUL, S. Optimizing the Tyrosinase Inhibitory and Antioxidant Activity of Mango Seed Kernels with a Response Surface Methodology. **Food Analytical Methods** v. 9, n. 11, p. 3032–3043. 2016.
- ROCHA, L.A.B.; SILVA, J.C.; NETO, A.F. Simulação computacional do resfriamento da manga Tommy Atkins. **Nucleus** v. 13, n. 2. 2016.
- ROCKENBACH I.I. Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*vitis vinifera* L. e *vitis labrusca* L.). UFSC, 2008. 112 f. Tese (Mestre em Ciências em Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.2008.
- ROSENBOHM, C., LUNDT, I., CHRISTENSEN, T., JOVEM, N.G. **Chemically methylated and reduced pectins: preparation, characterisation by ¹H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties**, **Carbohydrate Research**. v. 338, n. 7, p. 637-649. 2003.

SANTOS, E. R. M. Extração, Caracterização e Avaliação bioativa do Extrato de Rumex Acetosa. UFRN,2013. 90 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte. 2013.

SANTOS, J. E. P.; BARROSO, A. P. R. N.; PARENTE, M. M. V.; SAMPAIO, C. G. Estudo da Inibição de Corrosão do aço carbono em ácido clorídrica na presença de mangiferina. *Matéria* (Rio de Janeiro), v. 21, n. 4, p. 1045–1053, 2016.

SARTORI, C. J. Avaliação dos teores de compostos fenólicos nas cascas de *Anadenanthera peregrina* (angico-vermelho). UFLA,2012. 94 f. Tese (Mestrado em Ciências e Tecnologia da Madeira) Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. 2012.

SELLAMUTHU, P. S.; DENOYA, G. I.; SIVAKUMAR, D.; POLENTA G. A.; SOUNDY P. Comparison of the contents of bioactive compounds and quality parameters in selected mango cultivars. *Journal of Food Quality*. v. 36, p.394–402. 2013.

SEMEDO, A. C. J. **Compostos bioativos de *Opuntia ficus indica***. 2012. Universidade de Lisboa,2012. 119 f. Tese (Mestrado em Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos) Universidade de Lisboa, Lisboa. 2012.

SILVA, A. G.; CAVALCANTE, M.T.; ALMEIDA, M.C.B.M.; ARAÚJO, A.S.; CHINELATE, G.C.B.; FLORENTINO, E.R. R. Utilização do amido da amêndoa da manga Tommy Atkins como espessante em bebida láctea. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.17, n.12, p.1326–1332, 2013.

SILVA, E. M.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H.; REE, J. F.; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*. v. 101, n.3, p.1012-1018. 2007.

SIRIAMORNUN, S.; TANGKHAWANIT, E.; KAEWSEEJAN, N. Reducing retrogradation and lipid oxidation of normal and glutinous rice flours by adding mango peel powder. *Food Chemistry*. v. 201, p. 160–167. 2016.

SOARES, Sergio Eduardo. Phenolic acids as antioxidants: review. *Rev. Nutr.*, Campinas, v. 15, n.1, p.71-81, jan./abr. 2002.

SOUZA, C. G. Extração de compostos bioativos e pectina da casca de maracujá utilizando sistema pressurizado e ultrassom. UFC, 2015. 62 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Ceará, Ceará. 2015a.

SOUZA, M. E. A. O. Potencial antioxidante de extratos da casca de manga (*Mangifera indica* L.) da variedade Tommy Atkins obtidos por métodos a baixa e a alta pressão e dimensionamento de uma coluna para extração supercrítica. UFSC, 2015. 191 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 2015b.

TABARAKI, R., HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punicagranatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, v. 98, n. 19, p.16-23. 2012.

THIRUGNANASAMBANDHAM, K.; SIVAKUMAR, V.; PRAKASH MARAN, J. Process optimization and analysis of microwave assisted extraction of pectin from dragon fruit peel. **Carbohydrate Polymers** v. 112, p. 622–626. 2014.

TREIN, F.A.; SANTOS, A.; VARGAS, A.S.; RODRIGUES, M.A.S. Utilização de resíduos industriais como isolantes térmicos: uma revisão aplicada ao caso do projeto kit-mores sob a ótica do eco design. **Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Design**. v. 9, n.2. 2016. Disponível em: <http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/utilizacao-de-resduos-industriais-como-isolantes-trmicos-uma-reviso-aplicada-ao-caso-do-projeto-kit-mores-sob-a-tica-do-eco-design-24597>.

TREVISAN, M. T. S.; ALMEIDA, R. F. de; SOTO, G.; FILHO, E. D. M. V.; ULRICH, C. M.; OWEN, R. W. Quantitation by HPLC-UV of Mangiferin and Isomangiferin in Coffee (*Coffea arabica*) Leaves from Brazil and Costa Rica After Solvent Extraction and Infusion. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 9, p. 2649–2655, 2016.

TROVATTI, E.; SANTOS, A. M.; AMARAL, A. C.; MENEGUIN, A. B.; MATOS, B. D.; PACHECO, G. M.; CARVALHO, R. A.; LAZARINI, S. C.; CARDOSO O.; VALÉRIA M.; LUSTRI, W. R.; BARUD, H. S. **Biopolímeros: aplicações farmacêutica e biomédica Eclética Química**. v. 41, p. 1-31. 2016.

VETUCCI, J. P.; BERALDO, P. E. P.; CALDERAN, A. N. Manga: **Boletim markesalq em rede** v. 16, n. 4. 2016.

VORAGEN, A.G.J.; COENEN, G.J.; VERHOEF, R.P.; SCHOL, H.A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. v. 20, p. 263–275. 2009.

WANG, M.; HUANG, B.; FAN, C.; ZHAO, K.; HU, H.; XU, X.; PAN, S.; LIU, F. Characterization and Functional Properties of Mango Peel Pectin Extracted by Ultrasound Assisted Citric Acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 794–803, 2016.

WESTERENG, B., MICHAELSEN, T. E., SAMUELSEN, A. B., & KNUTSEN, S. H. Effects of extraction conditions on the chemical structure and biological activity of white cabbage pectin. **Carbohydrate Polymers** v. 72, n. 1, p. 32-42. 2008.

YINGNGAM. B.; SUPAKA, N.; RUNGSEEVIJITPRAPA, W. Optimization of process parameters for phenolics extraction of *Cratogeomys formosum* ssp. *formosum* leaves by response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**. v. 52, n. 1, p.129–140. 2015.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C.A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 20, n. 3, p. 459–471. 2010.