



ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE FRUTAS TROPICAIS

Juliana INFANTE*

Miriam Mabel SELANI**

Nataly Maria Viva de TOLEDO***

Mayra Fernanda SILVEIRA-DINIZ*

Severino Matias de ALENCAR****

Marta Helena Fillet SPOTO****

■ **RESUMO:** O Brasil, por ser um país de grande atividade agrícola, é um dos que mais produzem resíduos agroindustriais. Buscando alternativas para a aplicação destes subprodutos, o objetivo deste trabalho foi determinar o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de resíduos de abacaxi (casca e bagaço da polpa), maracujá (casca e semente), caju (bagaço da polpa) e manga (bagaço da polpa), provenientes de frutas utilizadas para fins industriais. Os mesmos foram congelados, liofilizados e armazenados a -18°C . O teor de compostos fenólicos foi analisado pelo método de Folin-Ciocalteu; a atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos do sequestro do radical livre DPPH, autooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico e FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Com relação aos compostos fenólicos, observou-se que o extrato de resíduo de caju apresentou o maior teor, seguido dos extratos de manga, maracujá e abacaxi. Entre as análises de atividade antioxidante, o método do sequestro do radical livre DPPH demonstrou maior correlação positiva com o conteúdo fenólico ($r = 0,97$). Tanto no ensaio DPPH, como no FRAP, o destaque foi o resíduo de caju. Já para o método de autooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico, todos os resíduos, com exceção do caju, exibiram atividades significativas, inibindo a oxidação do carotenoide em valores próximos a 50% quando comparados ao controle. O estudo mostrou que esses resíduos apresentam atividade antioxidante e, portanto, potencial de utilização como fonte de antioxidantes naturais.

■ **PALAVRAS-CHAVE:** Resíduos de frutas; compostos fenólicos; DPPH; FRAP; autooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

INTRODUÇÃO

As frutas tropicais são comumente consumidas *in natura*, uma vez que suas características de cor, textu-

ra, aroma e propriedades nutricionais podem ser melhor apreciadas nestas condições. Entretanto, por serem extremamente perecíveis, são, em sua grande maioria, processadas e tornam-se produtos como sucos, néctares, polpas, geleias e doces. Desta maneira, o processamento colabora com o aumento da vida útil, além de facilitar o transporte e agregar valor ao produto (BARRET et al., 2005). Algumas frutas tropicais como manga, maracujá, abacaxi e caju, se enquadram neste contexto, já que são amplamente difundidas e valorizadas, tanto por suas características nutricionais quanto pelos seus atributos sensoriais.

Após o processamento, as frutas geram subprodutos, os quais muitas vezes, não possuem um destino específico, tornando-se contaminantes ambientais e, conseqüentemente, gerando custos operacionais às empresas, pois necessitam de tratamento para o descarte.

Dentre os resíduos agroindustriais mais comumente encontrados destacam-se as cascas, sementes e bagaço. De acordo com Bártholo (1994), após o processamento das frutas para elaboração de sucos e polpas, são obtidos 40% de resíduos para frutas como maracujá, manga, acerola e caju. Atualmente, estudos estão averiguando a capacidade antioxidante destes tipos de materiais, a fim de destiná-los uma aplicação.

As frutas tropicais são alimentos ricos principalmente em vitaminas C, E, carotenoides, compostos fenólicos e fibra alimentar (GONZALEZ-AGUIAR et al., 2008). O consumo destes alimentos está relacionado a efeitos benéficos à saúde, tais como redução do risco de câncer, Alzheimer, catarata e Parkinson. Estes efeitos são atribuídos às propriedades antioxidantes dos compostos bioativos, os quais inibem a oxidação de moléculas, evitando o início ou propagação das reações de oxidação em cadeia (AYALA-ZAVALA et al., 2011).

Nos últimos anos os consumidores têm aumentado a demanda por alimentos seguros e estão, especialmente, pre-

* Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Mestrado em Ciências – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ – Universidade de São Paulo – USP – 13418-900 – Piracicaba – SP – Brasil. E-mail: julianainfa@gmail.com.

** Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Curso de Doutorado – ESALQ – USP – 13418-900 – Piracicaba – SP – Brasil.

*** Programa de Pós-Graduação em Ciências – Curso de Mestrado – Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP – 13418-900 – Piracicaba – SP – Brasil.

**** Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição – ESALQ – USP – 13418-900 – Piracicaba – SP – Brasil.

ocupados com os efeitos colaterais ligados ao consumo de aditivos artificiais. No entanto, os aditivos são importantes para a manutenção da qualidade dos alimentos, principalmente no que diz respeito ao retardo da oxidação lipídica e à inibição e crescimento de diversos micro-organismos deteriorantes e patogênicos. Considerando-se que os resíduos agroindustriais de frutas e hortaliças são capazes de atuar como antioxidantes naturais, estes poderiam ser empregados em substituição aos antioxidantes sintéticos, colaborando para fins de segurança alimentar e agregando valor aos subprodutos. Além disso, sua utilização permite reduzir a quantidade de resíduos descartada no ambiente.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de resíduos de caju, manga, maracujá e abacaxi, frutas tropicais comumente utilizadas para fins industriais.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Os resíduos de abacaxi (AB) (casca e bagaço), maracujá (MR) (casca e semente), caju (CA) (bagaço da polpa) e manga (MN) (bagaço da polpa) foram obtidos da indústria processadora de polpa de frutas De Marchi Ind. e Com. de Frutas Ltda (Jundiaí, São Paulo). O transporte dos resíduos foi feito sob refrigeração. Em seguida, eles foram congelados, liofilizados e armazenados a -18°C.

Neste estudo, os seguintes reagentes foram utilizados: etanol (PA), carbonato de sódio (Na_2CO_3) (PA), ácido acético glacial (PA) (Synth), Folin-Ciocalteu (PA) (Dinâmica), ácido gálico (99%), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), β -caroteno (>93%), ácido linoleico (99%), Tween 40, acetato de sódio (99%), cloreto férrico (FeCl_3) (97%) (Sigma), TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina ($\geq 99\%$), sulfato ferroso (99,5%), Trolox (2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (>98%) (Fluka), clorofórmio (PA), ácido clorídrico (HCl) (PA) (F Maia).

Preparo dos Extratos

Os extratos dos resíduos foram obtidos em triplicata, como descrito por Bloor (2001). De cada resíduo liofilizado e moído, pesaram-se 2 gramas e adicionaram-se 20 mL do solvente constituído por etanol:água (80:20 v/v). A mistura foi então submetida ao ultrassom à temperatura ambiente durante 20 minutos. Em seguida, foi centrifugada a 5000xg por 15 minutos e o sobrenadante (extrato) utilizado para as análises subsequentes.

Determinação de Compostos Fenólicos

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999), utilizando-se para construir as curvas de calibração soluções de ácido gálico nas concentrações de 5 a 100 μg por mL. Foram adi-

cionados 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 4% em 0,5 mL dos extratos. Após 2 horas ao abrigo da luz, leituras a 740 nm foram realizadas e os resultados expressos em mg de ácido gálico por grama de resíduo em base seca.

Atividade Antioxidante

Sequestro do radical livre (DPPH)

A atividade antioxidante dos resíduos, utilizando o radical livre DPPH, foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Mensor et al. (2001). Tubos contendo 500 μL de amostra, 3,0 mL de etanol e 300 μL de solução de DPPH (0,5 mM) permaneceram em repouso no escuro e, após 45 minutos, foram realizadas as leituras de absorbância a 517 nm. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox por grama de resíduo em base seca.

Autoxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

O ensaio foi realizado segundo o método descrito por Emmons et al. (1999): 50 μL de amostra foram adicionados a 3 mL da emulsão formada por solução 10% de β -caroteno (3 mL), Tween 40 (400 mg), ácido linoleico (40 mg) e água destilada aerada por 30 minutos (100 mL). Após 2 horas em banho-maria a 50°C, foram realizadas as leituras a 470 nm. A atividade antioxidante foi expressa como percentual de inibição relativa ao controle, no qual o volume de amostra foi substituído pelo solvente de extração (etanol 80%). Para efeito de comparação, o fator diluição foi o mesmo para todos os extratos obtidos (1:5).

Redução do ferro – FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Para a quantificação da atividade antioxidante através da redução do ferro, utilizou-se a metodologia descrita por Kukic et al. (2008) com algumas modificações. Alíquotas de 100 μL de amostra foram adicionadas a 3 mL do reagente FRAP e incubadas a 37 °C em banho-maria durante 30 minutos. As leituras de absorbância foram feitas a 595 nm e os resultados expressos em μmol Fe^{2+} por grama de resíduo em base seca. O reagente FRAP foi preparado através da mistura de 2,5 mL de solução de TPTZ (10 mM TPTZ em 40 mM HCl), 2,5 mL de FeCl_3 (20 mM em solução aquosa) e 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6).

Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o software SAS (1996). Coeficientes de correlação de Pearson foram determinados entre os teores de compostos fenólicos e os três métodos de atividade antioxidante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao teor de compostos fenólicos totais, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os resíduos analisados (Tabela 1). O extrato do resíduo de caju apresentou o maior teor de compostos fenólicos, seguido dos extratos dos resíduos de manga, maracujá e abacaxi. Melo et al. (2008), estudando diversas polpas de frutas, encontraram a seguinte ordem crescente em relação ao teor de compostos fenólicos: abacaxi < maracujá < manga < caju, corroborando com os resultados do presente estudo. A superioridade do resíduo de caju frente a outras amostras pode estar relacionada à quantidade de vitamina C presente na fruta (120 a 300 mg.100g⁻¹) (OLIVEIRA et al., 2009), valores considerados altos quando comparados à manga (36,4 mg.100g⁻¹), ao maracujá (18,2 mg.100g⁻¹) (USDA, 2012), e ao abacaxi (20 mg.100g⁻¹) (REINHARDT et al., 2004; THÉ et al., 2010). Esta vitamina, sendo uma substância redutora, atua como um interferente em métodos que utilizam o reagente de Folin. Em estudo realizado por Oliveira et al. (2009), verificou-se que a adição de ácido ascórbico a ácido gálico, em diferentes proporções, é capaz de aumentar as absorvâncias, podendo a interferência ser de 20% quando a razão ascorbato/galato é maior ou igual a 1.

Os teores de compostos fenólicos em resíduos de caju e manga foram superiores aos encontrados por Soong & Barlow (2004) e Rufino et al. (2010), na própria polpa destes frutos, sugerindo que os resíduos agroindustriais sejam capazes de preservar quantidades significativas de substâncias antioxidantes. A discrepância entre os resultados encontrados nos trabalhos pode ser explicada por variações na maturidade, variedade, práticas culturais, origem geográfica, estágio de crescimento e condições de colheita dos frutos (KIM et al., 2003). Os extratos destes materiais também se mostram superiores aos extratos metanólicos de sementes de tangerina e aos extratos etanólicos dos resíduos de goiaba (MELO et al., 2011) e maçã (SOARES et al., 2008). Além disso, os valores de compostos fenólicos em todas as amostras foram maiores que os encontrados em resíduos de abacate (SOONG; BARLOW, 2004).

No que diz respeito à atividade antioxidante, o resíduo de caju também se destacou em relação aos demais resíduos, com exceção para o método de autooxidação do β -caroteno/ácido linoleico, no qual o ácido ascórbico atua como pró-oxidante (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Referente ao ensaio de DPPH, os resíduos de caju e manga superaram os valores encontrados por Gonçalves (2008) em frutos de bacuri (15 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$), cupuaçu (19 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$), graviola (26 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$), buriti (19 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$), araçá (16 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$), tamarindo (21 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$) e maracujá doce (21 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$).

Quanto à capacidade de redução do ferro (FRAP), o resíduo de caju exibiu atividade comparável ao do açaí (220 $\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4.\text{g}^{-1}$), superando polpas de jambolão, caju e até mesmo a polpa de caju. Amostras de resíduos de abacaxi e maracujá também foram melhores quando comparadas ao fruto do bacuri (RUFINO et al., 2010). Algumas hortaliças analisadas por Tiveron (2010) exibiram valores inferiores aos resíduos analisados, por exemplo, o caju superou brócolis, chicória, rúcula e salsa; enquanto o abacaxi excedeu a acelga, o repolho e a beterraba, já o maracujá apresentou resultados melhores que pepino, abóbora, cenoura e vagem. Através destes resultados, pôde-se verificar que os resíduos analisados apresentaram considerável atividade antioxidante pelo ensaio FRAP, sendo inclusive maior que a de algumas hortaliças comumente consumidas no Brasil.

No sistema de autooxidação do β -caroteno, os resíduos (AB, MR e MN) exibiram boa atividade antioxidante, pois, mesmo diluídos na proporção de 1:5, foram capazes de inibir a oxidação do carotenóide em valores próximos a 50%, quando comparados ao controle.

Entre os métodos quantitativos de atividade antioxidante, o sequestro do radical livre DPPH demonstrou maior correlação positiva com o teor de fenólicos ($r = 0,97$). Notou-se ainda que o resíduo de caju influenciou fortemente os coeficientes de Pearson para os métodos de FRAP e autooxidação do β -caroteno. Quando desconsiderada a amostra CA da análise de correlação, os coeficientes passaram de 0,78 a -0,99 e de -0,97 a -0,13 para FRAP e autooxidação do β -caroteno, respectivamente.

Tabela 1 – Teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos resíduos de abacaxi, caju, maracujá e manga expressos como média \pm desvio padrão.

Resíduos	Compostos fenólicos (mg GAE/g m.s.)	DPPH ($\mu\text{mol Trolox/g m.s.}$)	Inibição da oxidação do β -caroteno (%)	FRAP ($\mu\text{mol sulfato ferroso/g m.s.}$)
AB	2,40 \pm 0,06 d	5,63 \pm 0,25 d	47,66 \pm 3,04 a	72,63 \pm 3,52 b
CA	10,67 \pm 0,10 a	68,60 \pm 0,23 a	-20,78 \pm 0,71 b	219,03 \pm 4,69 a
MR	3,43 \pm 0,24 c	10,29 \pm 0,44 c	39,44 \pm 3,30 a	34,91 \pm 3,84 c
MN	4,50 \pm 0,26 b	33,03 \pm 2,40 b	46,38 \pm 5,24 a	10,60 \pm 0,21 d
r*		0,97	-0,97	0,78

m.s.: matéria seca.

* coeficiente de correlação de Pearson entre compostos fenólicos e atividade antioxidante

AB: resíduo de abacaxi; CA: resíduo de caju; MR: resíduo de maracujá; MN: resíduo de manga.

Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

CONCLUSÃO

Através da utilização de três métodos de avaliação da atividade antioxidante *in vitro* (sequestro do radical livre DPPH, autoxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico e redução do ferro), observou-se que os resíduos analisados neste estudo apresentaram atividade antioxidante significativa, demonstrando possível aplicabilidade na extração de antioxidantes naturais. Entretanto, para a utilização destes resíduos como coadjuvantes na conservação de alimentos, tornam-se necessárias pesquisas envolvendo a melhor forma de aplicação, bem como qualidade e inocuidade do produto.

AGRADECIMENTOS

À De Marchi Ind. e Com. de Frutas Ltda., pelo fornecimento dos resíduos de frutas.

INFANTE, J.; SELANI, M. M.; TOLEDO, N. M. V.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; ALENCAR, S. M.; SPOTO, M. H. F. Antioxidant activity of agroindustrial residues from tropical fruits. **Alim. Nutr.= Braz. J. Food Nutr.**, Araraquara, v. 24, n. 1, p. 87-91, jan./mar. 2013.

■**ABSTRACT:** Brazil is a country with high agricultural activity, and because of it, is one of the largest producers of agroindustrial residues. In the search for alternatives to the application of these products, the objective of this study was to determinate the content of phenolic compounds and antioxidant activity of residues from pineapple (peel and pomace pulp), passion fruit (peel and seed), cashew (pomace pulp) and mango (pomace pulp), from tropical fruits used for industrial purposes. The material was frozen, freeze-dried and stored at -18°C . The content of phenolic compounds was analyzed by Folin-Ciocalteu method; antioxidant activity was assessed using the DPPH free radical scavenging method, β -carotene/linoleic acid system autoxidation and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Regarding the phenolic compounds, it was observed that the extract of cashew presented the highest content, followed by extracts of mango, passion fruit and pineapple. Among the analysis of antioxidant activity, the DPPH free radical scavenging method showed the highest positive correlation with phenolic content ($r = 0.97$). Both in the DPPH assay, as in FRAP, the residue of cashew presented the best results. For the method of β -carotene/linoleic acid system autoxidation, all residues, except the cashew, showed significant activities, inhibiting the carotenoids oxidation in approximately 50% when compared to the control. The study showed that the residues have antioxidant activity, with potential to be used as source of natural antioxidants.

■**KEYWORDS:** Fruit residues; phenolic compounds; DPPH; FRAP; autoxidation of β -carotene/linoleic acid system.

REFERÊNCIAS

- AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Res. Int.**, v. 44, p. 1866-1874, 2011.
- BABBAR, N. et al. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Res. Int.**, v. 44, p. 391-396, 2011.
- BARRET, D. M.; SOMOGYI, L. P.; RAMASWAMY, H. S. **Processing fruits: science and technology**. 2nd ed. Boca Raton: CRC, 2005. 841p.
- BÁRTHOLO, G. F. Perdas e qualidade preocupam. **Inf. Agropec.**, Belo Horizonte, v. 17, n. 179, p. 3, 1994.
- BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. **Methods Enzymol.**, v. 335, p. 3-14, 2001.
- DUARTE-ALMEIDA, J. M et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método do sequestro de radicais DPPH. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 2, p. 446-452. 2006.
- EMMONS, C. L.; PETERSON, D. M.; PAUL, G. L. Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. *In vitro* antioxidant activity and content of phenolic and tocol antioxidants. **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 4894-4898, 1999.
- GONÇALVES, A. E. S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonoides e vitamina C**. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- GONZALEZ-AGUIAR, G. A. et al. Bioactive compounds in fruits: health benefits and effect of storage conditions. **Postharv. Stewart Rev.**, v. 4, n. 3, p. 1-10, 2008.
- KIM, D. O.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chem.**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003.
- KUKIC, J. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. **Food Chem.**, v. 107, n. 2, p. 861-868, 2008.
- MELO, E. A. et al. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alim. Nutr.**, v. 19, n. 1, p. 67-72, 2008.
- MELO, P. S. et al. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciênc. Rural**, v. 41, n. 6, p. 1088-1093, 2011.
- MENSOR, L. L. et al. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother. Res.**, v. 15, p. 127-130, 2001.
- OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

REINHARDT, D. H. et al. Gradientes de qualidade em abacaxi 'Pérola' em função do tamanho e do estágio de maturação do fruto. **Rev. Bras. Frut.**, v. 26, n. 3, p. 544-546, 2004.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chem.**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT guide for personal computers**. 6th ed. Cary, 1996. 1028 p.

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

SOARES, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chem.**, v. 88, p. 411-417, 2004.

THÉ, P. M. P. et al. Características físicas, físico-químicas, químicas e atividade enzimática de abacaxi cv. Smooth Cayenne recém colhido. **Alim. Nutr.**, v. 21, n. 2, p. 273-281, 2010.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Nutrient database for standard reference**. Washington, 2012. Release 25.

Recebido em: 14/11/2011

Aprovado em: 11/01/2013