

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MODELAGEM MATEMÁTICA DA CINÉTICA DE SECAGEM DA CASCA DE
Muntingia calabura **L E EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS**
UTILIZANDO SOLVENTES VERDES POR DIFERENTES MÉTODOS.

Maringá

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA CINÉTICA DE SECAGEM DA CASCA DE
Muntingia calabura L E EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS
UTILIZANDO SOLVENTES VERDES POR DIFERENTES MÉTODOS.**

Luciana Alves da Silva Tavone

Orientador: Prof. Dr^a. Mônica Regina da Silva Scapim

Co-orientador: Prof. Dr^a. Rita de Cassia Bergamasco

Dissertação de Mestrado submetida à
Universidade Estadual de Maringá, como
parte dos requisitos necessários à obtenção
do Grau de Mestre em Engenharia de
Alimentos, na área de Engenharia de
processos.

Maringá – PR - Brasil

Março de 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Luciana Alves da Silva
Tavone perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia de
Alimentos em 08 de março de 2018.

COMISSÃO JULGADORA

Prof^a Mônica Regina da Silva Scapim.

Orientador

Prof^o André Alvares Monge Neto.

Membro da banca

Prof^a Lucineia Aparecida Cestaria Tonon.

Membro da banca

**CINÉTICA DE SECAGEM DE CASCAS DE *Muntingia calabura* L E
EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS UTILIZANDO SOLVENTES
VERDES POR DIFERENTES MÉTODOS.**

AUTOR: LUCIANA ALVES DA SILVA TAVONE

ORIENTADOR: PROF^a. DR^a. MÔNICA REGINA DA SILVA SCAPIM

CO-ORIENTADOR: PROF^a. DR^a. RITA DE CASSIA BERGAMASCO

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL 13 – 07; CEP: 87020-900 – Maringá – PR, Brasil, defendida em 08 de março de 2018. 230 p.

RESUMO

Frutos de *Muntingia calabura* L. são ricos em compostos bioativos, como antioxidantes e compostos fenólicos, sendo que, o consumo destes é associado à prevenção do câncer e envelhecimento. A utilização de extratos secos de frutos que apresentam alto teor de umidade, acaba por ser mais viável, pois aumenta a vida de prateleira e facilita o armazenamento do alimento. O grande desafio atualmente é relacionar as propriedades termodinâmicas de alimentos desidratados às questões de estabilidade de compostos bioativos dos produtos e otimização das condições de operação dos processos industriais, como por exemplo a secagem de alimentos. Neste estudo, modelos matemáticos foram ajustados aos dados experimentais da cinética de secagem da casca da *Muntingia calabura*, determinando o coeficiente de difusão efetivo, a energia de ativação e as propriedades termodinâmicas do processo. Após, foi avaliado o efeito das temperaturas de secagem sobre a atividade antioxidante e compostos fenólicos das cascas dos frutos, utilizando a extração convencional e por ondas ultrassônicas em solução aquosa e hidroalcoólica como solvente, e os ensaios experimentais foram realizados em diferentes tempos (30 e 60 min) e temperaturas (30 e 50 °C). Os melhores parâmetros das extrações convencional e assistida por ultrassom foram comparados com o método de extração com fluido supercrítico (CO₂). Após, realizou a determinação de

compostos bioativos dos extratos utilizando a técnica de espectrometria de massas, e por seguinte a análise citotóxica e antiproliferativa pelo Teste *Allium cepa*. As cascas de calabura foram submetidas à cinética de secagem pelo método de convecção de ar forçada a 40, 50 e 60 °C e para fins de comparação dos efeitos de temperatura sobre os compostos bioativos realizou-se a secagem por liofilização. Dentre os modelos analisados, o modelo de Logarítmico foi selecionado para representar o fenômeno de secagem da cinética das cascas de calabura. O coeficiente de difusão efetivo diminuiu 74% com a elevação da temperatura de 40 °C para 60 °C e a energia de ativação para a difusão líquida na secagem foi de 23,96 kJ mol⁻¹. A entalpia e a entropia decresceram com o aumento da temperatura, enquanto, a energia livre de Gibbs aumentou 5% para cada incremento de 10 °C na temperatura. Em relação ao teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante da casca de calabura, observou-se que o aumento na temperatura de secagem apresentou um efeito positivo na conservação dos compostos bioativos, sendo possível concluir que a secagem a 60 °C é a mais indicada para a condução do processo em tempo de 60 min, temperatura de 50 °C e extrator ultrassônico. Em relação a comparação dos métodos de extração convencional, assistida por ultrassom e fluido supercrítico (CO₂), os métodos não convencionais apresentaram os maiores valores de compostos fenólicos e antioxidantes quando comparados com o método tradicional, porém, ao serem comparados entre si, o CO₂ atingiu uma taxa de extração 28% a mais que o método ultrassônico. A espectrometria de massas permitiu a determinação de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas. Para as análises *in vitro*, os extratos de casca de calabura apresentaram resultados positivos, tendo efeitos antiproliferativo sobre células de *Allium cepa*.

Palavras chave: propriedades termodinâmicas, compostos fenólicos, atividade antioxidantes, extração com fluido supercrítico, teste antiproliferativo.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árvore de <i>Muntingia calabura</i>	16
Figura 2. Frutas de <i>Muntingia calabura</i>	17
Figura 3. Frutas de <i>Muntingia calabura</i>	17
Figura 4. Efeito da aw sobre a degradação química, microbiologia e enzimática dos alimentos.....	20
Figura 5. Estabilização do radical livres DPPH	25
Figura 6. Reação do FRAP - Redução do complexo TPTZ com Fe ³⁺	26
Figura 7. Reação do ABTS – Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio	26
Figura 8. Representação esquemática dos efeitos do processo de ultrassom sobre a interface de uma matriz vegetal.....	29
Figura 9. Diagrama pressão versus temperatura para CO ₂	30
Figura 10. Curvas de extração com fluido supercrítico CO₂ obtidas para as cascas de <i>Muntingia calabura</i> a uma pressão de 250bar, temperatura de 50° C e tempo de 80min. Para (A): taxa de fluxo SCCO₂ de 4,8 mL min⁻¹ para amostra SC30, (B): taxa de fluxo SCCO₂ de 4,1 mL min⁻¹ para amostra SC60, (C): comparação das curvas de rendimento das duas amostras.....	100
Figura 11. Espectros resultantes da análise das amostras SC30 (amostra 2) e SC60 (amostra 1), os óleos foram injetados no espectrômetro de massas no modo negativo DI-ESI(-)-MS por injeção direta.	101
Figura 12. Determinação de compostos bioativos de cascas de calabura por modo negativo-MEOH-NH ₄ OH 0,1% usando DI-ESI-MS. Sendo A: amostra ECV, B: amostra EAU, C: amostra SC30 e D; amostra SC60.	105
Figura 13. Determinação de compostos bioativos de cascas de calabura por modo positivo-MEOH-NH ₄ OH 0,1% usando DI-ESI-MS. Sendo A: amostra ECV, B: amostra EAU, C: amostra SC30 e D; amostra SC60.	106
Figura 14. Efeito citotóxico sobre o crescimento radicular de <i>Allium cepa</i> durante 48 horas utilizando água (controle negativo - CN), sulfato de cobre (controle positivo -CP) e os extratos ECV e EAE como tratamentos.	109
Figura 15. Células em fases de divisão em leitura das lâminas em microscópio óptico com aumento de 100 X pela técnica de varredura dos extratos de EAU. Tipos: A – prófase, B e C – anáfase, D – metáfase.	110

Figura 16. Índice de fase de células meristemáticas de *Allium cepa* sobre extractos de casca de *M. calabura*..... 110

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Modelos Matemáticos utilizados na cinética de secagem de alimentos	23
Tabela 2. Exemplos de estudos sobre os processos extração supercrítica, em função das matérias-primas, extratos obtidos e as variáveis de processo otimizadas referenciadas na literatura.....	31
Tabela 3. Desenho experimental das extrações assistida por ultrassom e convencional.	76
Tabela 4. Atividade antioxidante (ABTS) da casca de <i>Muntingia calabura</i> em diferentes condições de tempo, temperatura, solução e extração.	78
Tabela 5. Capacidade de redução de ferro (FRAP) da casca de <i>Muntingia calabura</i> em diferentes condições de tempo, temperatura, solução e extração.	79
Tabela 6. Compostos fenólicos totais (TPC) da casca de <i>Muntingia calabura</i> em diferentes condições de tempo, temperatura, solução e extração.	80
Tabela 7. Parâmetros selecionados para a análise de TAGs no sistema DI-ESI(-)-MS de sementes de <i>Muntingia calabura</i>	97
Tabela 8. Identificação de conteúdo de compostos bioativos nas casca de M. calabura obtidos por extração CO ₂ supercrítico, ultrassom e convencional e identificado por DI-ESI-MS positivo e negativo.....	103
Tabela 9. Atividade antioxidante (FRAP μ mTrolox/100g) e compostos fenólicos totais (TPC mgGAE/g massa seca) das extrações com fluido supercrítico CO ₂ , assistida por ultrassom e convencional das cascas de calabura.....	108

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1. Estrutura da dissertação	13
Objetivos	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
REFERENCIAL TEORICO	16
1. <i>Muntingia calabura</i>	16
2. Secagem de alimentos	19
3. Modelagem matemática	21
4. Antioxidantes	24
5. Extração.....	27
6. Extração por Ultrassom	28
7. Extração com Fluido Supercrítico.....	29
8. Espectrometria de Massas.....	31
9. Teste anti-proliferativo.....	32
10. Referencias bibliográficas.....	33
CAPITULO I: MATHEMATICAL MODELING OF THE THIN LAYER DRYING OF CALABURA PEEL (MUNTINGIA CALABURA) AND THE EFFECT OF DRYING TEMPERATURES ON BIOACTIVE COMPOUNDS	44
1. Introduction	44
2. Material and methods	46
2.1. Material.....	46
2.2. Forced convection drying process	46
2.3. Moisture content	47
2.4. Mathematical Models	47

2.5.	Determination of the effective diffusion coefficient.....	49
2.6.	Thermodynamic Properties.....	50
2.7.	Lyophilization Drying Process	50
2.8.	Preparation of the calabura peel sample	50
2.9.	Ultrasonic and conventional assisted extraction	50
2.10.	Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) by ABTS	51
2.11.	Total Phenolic Compounds (TPC).....	52
2.12.	Statistical analysis.....	52
3.	Results and discussion.....	53
3.1.	Drying kinetics and thermodynamic properties	53
3.2.	Effects of drying temperatures on total phenolic compounds (TPC) and antioxidant activity (ABTS and FRAP).....	61
4.	Conclusion.....	63
5.	References	64

CAPITULO II; EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM VERSUS CONVENCIONAL E INFLUÊNCIA DOS MÉTODOS DE SECAGEM SOBRE OS COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASCA DE CALABURA (MUNTINGIA CALABURA)..... 72

1.	Introdução	72
2.	Materiais e métodos.....	74
2.3.	Processo de secagem por convecção forçada e liofilização	75
2.4.	Extração assistida por ultrassom e convencional	75
2.5.	Determinação de compostos fenólicos e capacidade antioxidante	76
3.	Análise Estatística	77
4.	Resultados e Discussão	77
5.	Conclusão	84
6.	Referências bibliográficas	85

CAPITULO III: COMPARAÇÃO ENTRE A TÉCNICA EXTRAÇÃO CONVENCIONAL, ASSISTIDA POR ULTRASSOM E CO2 SUPERCRÍTICO: DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS POR DI-ESI-MS E EFEITO ANTIPROLIFERATIVO DAS CASCAS DE *MUNTINGIA CALABURA* L. 91

1.	Introdução	91
-----------	-------------------------	-----------

2. Material e métodos	92
2.1. Material vegetal	92
2.2. Processo de secagem das amostras	93
2.3. Extração pela técnica convencional e assistida por ultrassom	93
2.4. Extração pela técnica Supercrítico CO ₂ (SCE-CO ₂).....	94
2.5. Composição dos extratos	95
2.5.1. Injeção direta em espectrometria de massas com ionização electrospray - DI-ESI-MS para análise dos compostos bioativos	95
2.5.2. Injeção direta em espectrometria de massas com ionização electrospray - DI-ESI-MS para análise triacilgliceróis (TAGs).....	96
2.5.3. Compostos Fenólicos Totais (TPC)	97
2.5.4. Poder de redução do Ferro (FRAP)+.....	98
2.6. Teste do <i>Allium cepa</i>	98
2.7. Análise Estatística.....	99
3. Resultados e Discussão	99
3.1. Extração pelo fluido supercrítico (SFE – CO ₂)	99
3.2. Determinação do perfil de Triacilgliceróis (TAGs) do óleo de <i>Muntingia calabura</i> extraído por fluido supercrítico CO ₂	101
3.3. Determinação dos compostos bioativos das cascas de calabura	102
3.4. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante	107
3.5. Efeito citotóxico e antiproliferativo dos extratos de casca de <i>M. calabura</i> (Teste <i>Allium cepa</i>)	108
4. Conclusão	111
5. Referências bibliográficas	111
CONCLUSÃO GERAL	116
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	117
APÊNDICE	118

INTRODUÇÃO

1. Estrutura da dissertação

Nos últimos anos, a procura por fontes naturais de compostos antioxidantes e métodos de extração com maior rendimento cresceu exponencialmente, devido à utilização destes bioativos em indústrias alimentícias e farmacêuticas.

Os antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos, encontrados em frutos, atuam através de vários mecanismos, tais como, na eliminação de radicais livres, atividade enzimática e em composto de quelação de íons metálicos. No entanto, as composições dos efeitos sinérgicos destes compostos ainda não foram completamente avaliados (Bataglion et al. 2014; Méndez-Lagunas et al. 2017).

As cascas e sementes de frutas apresentam uma maior capacidade de compostos antioxidante quando comparadas com as suas polpas, estas, exibem sempre valores inferiores destes compostos quando avaliadas em pesquisas de quantificação (Morais et al., 2015).

Para se aplicar o modelo de cálculo da cinética de secagem, deve-se levar em consideração os períodos, pois os modelos são aplicados de forma diferente dependendo do parâmetro utilizado (Morais, 2010). Segundo a literatura, existem vários modelos para propor e analisar o período de secagem das amostras hidrosópicas, os mais conhecidos são os modelos teóricos, semiempíricos e os empíricos (Martinazzo et al., 2007). Segundo Siqueira et al. (2013) entre os modelos matemáticos empíricos que mais se enquadram na secagem de material vegetal são o modelo de Dois Termos, o de Henderson e Pabis, o de Page e o de Page Modificado e Midilli, sendo também os mais utilizados para definir o tempo ideal de secagem.

Ao longo das últimas décadas, a pesquisa neste campo tem permitido o desenvolvimento de técnicas de extração mais eficientes e ambientalmente sustentáveis (González-Centeno et al., 2015). No caso do processo de extração líquido-sólido, deve-se averiguar antecipadamente as condições a serem utilizadas, pois, o rendimento da extração de compostos antioxidantes do material vegetal sofrerá influência dos parâmetros empregados (González-Montelongo; Lobo; González, 2010).

Existem inúmeras técnicas para extrair antioxidantes de material vegetal, tais como a extração de Soxhlet, maceração, com uso de fluido supercrítico, extração assistida por ultrassom, entre outros. DO et al., (2014) esclarecem que o rendimento de extração não

depende apenas do método de que foi utilizado, mas também está relacionado com o tipo de solvente utilizado para a extração.

Segundo Mason; Chemat; Vinatoru (2011) a eficiência do processo de extração por mecanismos de ultrassom está ligada a pelo menos a três meios, na qual há um melhoramento da transferência de massa, dentre elas, temos o rompimento da estrutura celular vegetal por meio de colapsos ocasionados por cavitação (formação de bolhas), estas por sua vez aumentam a permeabilidade do tecido fazendo com que haja a liberação do material intracelular; o aumento da temperatura e pressão, ocasionado pelas ondas ultrassônicas, na zona de implosão das bolhas, faz com que haja melhoramento da solubilidade e penetração de solventes, e por último, há maior difusão ocasionado pela *microstreaming* gerada pela ultrassom.

Os solventes orgânicos são tradicionalmente utilizados na extração de compostos bioativos. No entanto, alguns solventes, como o metanol, são considerados tóxicos, desta forma, o mais habitual é o uso do etanol como solvente, por ser de cadeia mais simples e de grau alimentar (Li et al.,2006).

Muntingia (*Muntingia calabura*), também conhecida popularmente por calabura ou cereja-jamaicana, da família *Muntingiaceae*, é uma árvore de grande porte, que apresenta frutas pequenas com casca de cor variando desde o vermelho claro até tonalidade mais escura.

Suas flores são usadas como antisséptico e no tratamento de cólicas abdominais e espasmos (Preethi, Premasudha, & Keerthana, 2012). Flavonoides foram isolados e identificados a partir de várias partes da árvore de *Muntingia calabura* (Balan et al., 2015). É uma espécie arbórea tropical, de origem indígena das Américas Central e Sul, também amplamente disseminada por todo o Sudeste Asiático. As folhas e caules da muntingia indicam a presença de atividade antioxidante, além de outros bioativos, atribuídos a componentes fitoquímicos (Buhian, Rubio, & Martin-Puzon, 2017).

Objetivos

2.1. Objetivo geral

Verificar a influência das diferentes temperaturas de secagem na obtenção de antioxidantes e compostos fenólicos da casca de *Muntingia calabura L.*, em três métodos de extração: convencional, banho ultrassônico e fluido supercrítico (CO₂).

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Descrever o melhor modelo matemático para as três temperaturas empregadas na secagem da casca de calabura;
- ✓ Determinar o coeficiente de difusão e as propriedades termodinâmicas da casca de calabura;
- ✓ Verificar qual método de secagem (convecção forçada e liofilização) tem menor ação gradativa para compostos bioativos de casca de calabura;
- ✓ Realizar extrações pelo método convencional e assistido por ultrassom, e conferir em qual dos métodos as taxas de eficiência de compostos bioativos se sobressaem;
- ✓ Encontrar os melhores parâmetros (tempo, temperatura e solvente) para extração de compostos bioativos;
- ✓ Realizar extrações com dióxido de carbono supercrítico;
- ✓ Determinar pelo método de espectrometria de massas os compostos bioativos presentes em diferentes extratos de casca de calabura.
- ✓ Testar a ação antiproliferativa e citotóxica das cascas de calabura pelo teste de *Allium cepa*.

REFERENCIAL TEORICO

1. *Muntingia calabura*

Plantas medicinais são utilizadas como fármaco popular em todo mundo, visto que seus componentes trazem benefícios à saúde, podendo curar várias doenças como infecções, febres, alergias de pele, diarreias, dores estomacais, entre outras. Segundo Yasunaka et al. (2005) nos últimos 30 anos houve um avanço no estudo desses tipos de plantas, contudo umas grandes gamas de plantas ainda não foram analisadas cientificamente.

Dentre essas plantas que podem trazer benefícios encontra se a *Muntingia calabura* L. sendo essa uma fruta cultivada no Sudeste Asiático e nas Américas Central e do Sul (Buhian et al., 2017). Conhecida popularmente tanto como calabura ou por cereja da jamaica, a planta pertence à família Elaeocarpaceae é a única espécie no gênero Muntingiaceae (Gomathi, Anusuya, & Manian, 2013; Liana, Eddrina, Mohtarrudin, & Othman, 2017), como pode ser observada na Figura 1. Em época de frutificação, o fruto é encontrado com abundância, em forma arredondada, sabor adocicado, que lembra frutas de pêsego, sua cor varia entre vermelha em estado de maturação avançada a amarelo (Figura 2), sua polpa apresenta sementes pequenas de cor amarela (Figura 3). Pode ser consumida tanto in natura como em geléias, compotas, chás (Kubola, Siriamornpun, & Meeso, 2011).



Figura 1. Árvore de *Muntingia calabura*

Fonte: Sitio da Mata



Figura 2. Frutas de Muntingia calabura

Fonte: Sitio da Mata



Figura 3. Frutas de Muntingia calabura

Fonte: Sitio da Mata

O consumo dos frutos de calabura tem sido indicado devido à presença de carboidratos, vitamina C, vitamina A, fibras, fósforo e outros compostos antioxidantes

(Machado et al., 2013). Diferentes partes da calabura vêm sendo utilizada na medicina popular, como no tratamento de dores estomacais, de cabeça e agente antissépticos (Mahmood et al., 2014; Yasunaka et al., 2005). Estudos científicos sobre a calabura revelaram que cascas, flores, raízes e frutas da planta apresentam propriedades de efeito antinociceptivo (Amiruddin et al., 2016), atividade anticarcinogênica (Liana et al., 2017), atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, antiproliferativas (Balan et al., 2015; Rotta, Windson, Haminiuk, & Maldaner, 2017; Zakaria et al., 2011), atividade antidiabética (Chaitanya, Kumar, Mohan, & Pradesh, 2011), antimicrobiana (Patrick et al., 2017; Sufian, Ramasamy, Ahmat, Zakaria, & Yusof, 2013), atividade quinona redutase (SU et al., 2003

Já para usos alternativos, os extratos de flores e frutos de calabura (Bandeira, Gomes, Barros, Muhammad, & Akhtar, 2013), .foi testada como inseticida. Bandeira et al., 2013 utilizaram extratos de hexano e etanoicos, provenientes dos frutos e das flores da planta, para verificar o efeito sobre larvas e pupas na couve (*Plutella xylostella*). O tratamento teve duração de 72h por imersão, e ao final do tratamento conclui-se que os extratos etanoicos das frutas e flores da calabura tem efeitos toxico sobre as larvas de *P. xylostella* sendo possível a sua comercialização para o controle da praga.

Estudos mais recentes sobre *M. calabura*, detectaram a atividade antioxidante nas cascas da fruta com diferentes condições de extração. Rotta et al.(2017) realizou os ensaios do método baseado na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), da capacidade de absorvência de radicais de oxigênio (ORAC), método do ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) (ABTS) e método do poder de redução de ferro (FRAP), e analisou os extratos pela análise UPLC-ESI-MS / MS de HPLC-DAD, sendo que todos os extratos apresentaram atividade antioxidante favorável. Esses autores encontraram altos níveis de Ácido Gálico, Ferúlico, Vanílico e Miricetina nas cascas das frutas de calabura. Em outro estudo, Buhian et al.(2017) realizaram a cromatografia em camada fina (TLC), sob luz visível, UV a 254 nm, UV 366 nm, para avaliar a concentração de antioxidantes em extratos de etanol como solvente das folhas e caules da *Muntingia calabura* , os resultados demonstraram presença de diversos metabólitos secundários na folha e etanol do caule extratos, indicando que a atividade antioxidante.

Em análises dos efeitos antimicrobianos e antifúngicas, pesquisadores utilizam comumente folhas secas e caules da *M. calabura*. Patrick et al., 2018, submeteu diferentes partes da calabura a extração com etanol 95%, para verificar a legitimidade de inibição, eles verificaram a alta inatividade de gêneros como *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus subtilis*, e *Cândida albicans* (*C. albicans*), e para o gênero *Escherichia coli* baixa inibição, podendo chegar a conclusão que a *M. calabura* tem alto potencial antibactericida e antifúngica.

A partir da literatura citada, pode-se considerar a *M. calabura* uma planta de alto potencial nutricional e fármaco. Porém, apesar dos vários trabalhos, ainda não foi relatado o uso na calabura na área alimentícia, sendo essa inserção um grande ganho para a população. Sugere-se que pesquisas mais intensas sejam realizadas a fim de identificar novos compostos bioativos e juntamente com as informações já coletadas, inserir a calabura como uma alternativa de alimento.

2. Secagem de alimentos

A operação unitária em que se tem a retirada de água ou outro componente em estado líquido de um material sólido ou semi-sólido é denominada de secagem, tal efeito pode ser por meios mecânicos (prensagens, centrifugação) ou por meios naturais (evaporação instantânea) (McCabe, 1993). A secagem está relacionada a diversos efeitos externos que devem ser monitorados, segundo estudos relacionados aos produtos agrícolas, antes de iniciar a secagem, deve-se se atentar á temperatura do ar, umidade relativa (UR), a velocidade do ar (no caso de se utilizar métodos convencionais), tempo de secagem, dentre outros parâmetros (Goneli, Vieira, Vilhasanti, & Gonçalves, 2014).

Fellows (1988) descreve o processo de secagem como um fenômeno onde o calor utilizado no processo é transportado para a superfície do material acarretando na evaporação da água do produto. Na propagação do vapor d'água ocorre a chamada camada limite, fazendo com que se crie uma diferença entre as pressões de vapor d'água interna do material úmido e externa do ar seco.

Métodos de secagem vêm sendo utilizados desde o início da civilização, pois a secagem de alimentos reduz o teor de água prolongando a vida útil do produto, reduz custos com embalagens, armazenamento e transporte, visto que, há diminuição do volume, em relação a alimentos sazonais, como frutas e hortaliças, a secagem beneficia

o setor comercial, pois fornece aos consumidores a disponibilidade dos alimentos durante todo o ano.

De modo geral com a redução do teor de água no alimento, a atividade de água (a_w) consequentemente será menor, essa redução faz com que haja a redução das reações químicas e enzimáticas, com exceção para oxidação lipídica, e por conseguinte a diminuição do crescimento de microrganismos (Figura 4), esse fato acontece pois todos mecanismo metabólico precisa de água (Corrêa, Oliveira, Botelho, Goneli, & Carvalho, 2010).

Existem vários métodos de secagem desde os convencionais por ar quente forçado (Chen et al., 2015; Silva et al., 2014; Vega-Galvez et al., 2012), natural com secagem solar (Akpinar, 2006), há secagens com métodos mais elaborados como por infravermelho (Q. Chen et al., 2015), ultrassom (do Nascimento, Mulet, Ascheri, de Carvalho, & Carcel, 2016; Tao et al., 2016), desidratação osmótica (Sette, Salvatori, & Schebor, 2016), liofilização (N. C. Silva, Santana, Duarte, & Barrozo, 2017), secagem a vácuo (Sunjka, Rennie, Beaudry, & Raghavan, 2004). Tais métodos vêm sendo empregados atualmente por serem mais rápidos e degradar menos as propriedades físicas, sensoriais do produto.

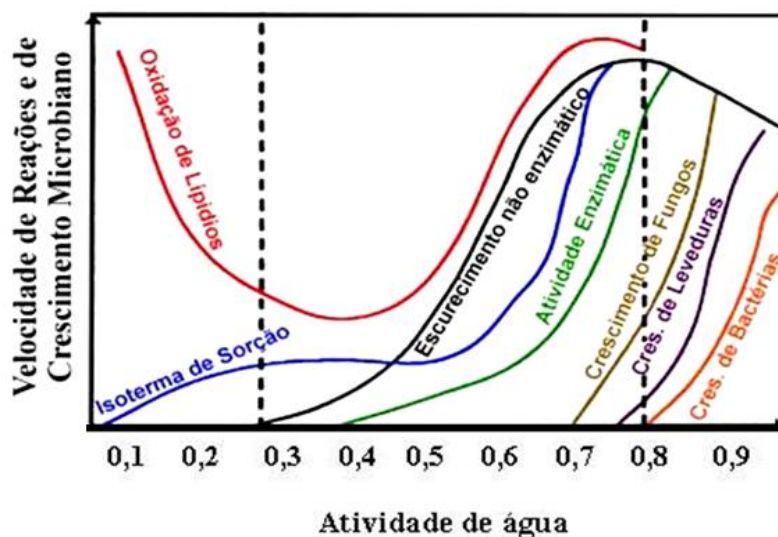


Figura 4. Efeito da a_w sobre a degradação química, microbiologia e enzimática dos alimentos

Fonte: Fennema (2000).

Outras técnicas vem ganhando mercado, como as secagens híbridas ou combinadas. Segundo Onwude, Hashim, & Chen (2016) a aplicação destas tecnologias em combinação, ajuda a diminuir o teor de umidade inicial mais rapidamente fazendo com que o tempo de secagem seja em menos tempo devido a mudança da estrutura celular.

A cinética de secagem é utilizada para medir o tempo em que os alimentos levam para perder umidade. Desta forma, cinéticas de secagem em camada fina vêm sendo aplicadas em material vegetal, tais como peras (V. Silva et al., 2014), maçãs (Vega-Gonzálvez *et al.*, 2012; Kaleta e Górnicki, 2010), maracujá (do Nascimento, Mulet, Ascheri, de Carvalho, & Cárcel, 2016), folhas de alecrim (Mghazli et al., 2017), tomates (Azeez, Adebisi, Oyedeji, Adetoro, & Tijani, 2017; Workneh & Oke, 2013), abacate (Avhad & Marchetti, 2016), frutos do espinheiro (Aral e Bese, 2016), sementes de uva (Roberts, Kidd, & Padilla-zakour, 2008), pois através dos dados coletados é possível conhecer os mecanismos de transferência de calor e massa, como a energia de ativação e difusão efetiva, além de aperfeiçoar procedimentos e melhorar a qualidade dos produtos (Botelho, Garcia, Viana, Botelho, & Sousa, 2016; Q. Chen Et Al., 2015).

3. Modelagem matemática

Modelos matemáticos são utilizados para otimizar a secagem de alimentos, visto que, descrevem como funcionam os mecanismos de perda de água em produtos alimentícios em função do tempo. Na literatura, existem diversos modelos que descrevem o comportamento dos produtos durante o processo de secagem, como os modelos teóricos, semiteóricos e empíricos. A diferença entre eles, está no fato que nos modelos teóricos há somente a consideração da resistência interna à transferência de calor e água entre o material e o ar aquecido, e nos demais modelos há consideração da resistência externa da temperatura e da umidade relativa do ar de secagem (Goneli, Vieira, Vilhasanti, & Gonçalves, 2014).

Midilli, Kucuk, & Yapar (2002) relatam que os modelos matemáticos podem ser descritos como teóricos e semi-empíricos e esses são utilizados para estimar o tempo ideal e obter curvas de secagem, descrevendo as características físicas do material analisado. Os modelos habitualmente utilizados para frutas e hortaliças são Newton, Midilli, Page, Valcan, Logaritmica, Henderson-Pabis.

Segundo Botelho et al. (2016), para obter as modelagens matemáticas provenientes das curvas de secagem de um material é preciso também determinar os índices físicos e termodinâmicos, visto que, esses parâmetros estão relacionados a transferência de calor e massa, que são fundamentais para o dimensionamento adequado de toda a estrutura utilizada para a secagem. Além disso, por meio da avaliação desses índices, é possível comparar a secagem entre espécies ou materiais diferentes e avaliar as peculiaridades dos produtos, como por exemplo finalidades e exigências distintas, como é o caso de grãos e sementes.

Os índices termodinâmicos de entalpia e entropia são calculados a partir dos dados observados durante a secagem. A variação de energia que ocorre durante o processo de perda de água das moléculas é calculada pela entalpia, e a entropia calcula a desordem das moléculas (atração ou repulsão) no sistema e está relacionada com a ordenação espacial da água e produto (Corrêa et al., 2010).

Para descrever o processo de secagem durante a queda de velocidade da transferência de umidade, a segunda Lei de Fick é amplamente utilizada para materiais vegetais. A difusão da umidade na amostra é o principal fenômeno de transporte que delinea esse processo de transferência (Henríquez, Córdova, Almonacid, & Saavedra, 2014b).

Lewis (1921) foi um dos primeiros pesquisadores a valer-se da Lei de Fick em seus trabalhos. Ele analisou o processo de secagem e demonstrou que o processo se divide em dois períodos: um com taxa constante e os demais períodos como taxa decrescente, baseando-se no comportamento da velocidade de secagem, sendo assim, interpretou tal efeito como um fenômeno de difusão.

A tabela 1 apresenta alguns modelos matemáticos utilizados na secagem convectiva de alimentos. Onde pode-se observar que algumas equações apresentam diferenças entre si em relação ao número de parâmetros a serem estimados.

Tabela 1. Modelos Matemáticos utilizados na cinética de secagem de alimentos

Nome do Modelo	Expressão matemática	Referências
Difusão Aproximada	$MR=a \exp(-kt)+(1-a) \exp(-kbt)$	(Kassem, 1998)
Dois Termos	$MR=a \exp(-k_1t)+b \exp(-k_2t)$	(Y. I. Sharaf-Eldeen, J. L. Blaisdell, & M. Y. Hamdy, 1980)
Henderson e Pabis	$MR=a \exp(-kt)$	(S. M. Henderson, 1974)
Logaritmico	$MR=a \exp(-kt)+c$	(Kingsly, Goyal, Manikantan, & Ilyas, 2007)
Midilli <i>et.al.</i>	$MR=a \exp(-kt^n)+bt$	(Midilli et al., 2002)
Newton	$MR=\exp(-kt)$	(Lewis, 1921)
Page	$MR=\exp(-kt^n)$	(Page, 1949)
Thompson	$MR=\exp(-a-(a^2+4bt)^{0.5}/(2b))$	(T. L. Thompson, R. M. Peart and G. H. Foster, & Foster, 1968)
Valcam	$MR=a+bt+ct^{1.5}+dt^2$	(Madamba, Driscoll, & Buckle, 1996)
Verma	$MR=a \exp(-k_1t)+(1-a) \exp(-k_2t)$	(Lalit R. Verma, R. A. Bucklin, J. B. Endan, & F. T. Wratten, 1985)

t: tempo de secagem (min);

k, k₀, k₁: constantes de secagem (h⁻¹);

a, b, c, n: coeficientes dos modelos.

A velocidade em que a água sai do material durante o processo de secagem é calculada a partir do ajuste dos valores experimentais da cinética de secagem, ou seja, pelo parâmetro denominado coeficiente de difusão (Def), o valor encontrado descreve os fenômenos e efeitos sobre a migração da água (R. B. Silva, Silva, Porto, & Pilonetto, 2016).

Quando a expansão da superfície onde ocorre a difusão é bem menor do que as outras dimensões, é considerado como um meio infinito. Para as placas consideradas como planas, deve-se analisar se a espessura onde ocorre o processo de difusão é inferior ao seu comprimento e largura, para esse caso, aplica o teorema da difusão unidirecional.

4. Antioxidantes

A extração de compostos naturais como os antioxidantes, obtidos a partir de fontes de material vegetal podem proporcionar um importante valor agregado para as propriedades farmacológicas e nutricionais (Hani, Torkamani, 2017).

Estruturalmente os antioxidantes são definidos como compostos aromáticos que possuem ao menos uma hidroxila (-O-H). Classificados em sintéticos, os quais são amplamente utilizados pela indústria de alimentos, e naturais, sendo os organosulfurados, fenólicos e terpenos (Ramalho e Jorge, 2006).

Huong et al. (2005) define os antioxidantes como enzimas ou substâncias de caráter orgânico, que atuam sobre a oxidação de tecidos animais, evitando danos relacionados ao envelhecimento precoce. Enquanto que, Jayaprakasha (2002) os define como substâncias de origem natural ou sintética que, quando adicionados a produtos alimentares, podem prevenir ou retardar a deterioração, principalmente de alimentos que apresentem taxas lipídicas (Jayaprakasha, 2002).

Dentre os diversos compostos que podem diminuir ou prevenir a oxidação de outra substância, encontra-se compostos fenólicos, enzimas antioxidantes, ligações de ferro, proteínas transportadoras e outros compostos que afetam o sinal de expressão gênica.

Devido aos efeitos benéficos proporcionados a saúde, dietas ricas em fruta e vegetais constituídos de compostos fenólicos têm ganhado cada vez mais espaço, esses constituintes tem auxiliado a redução do risco de doença cardiovascular, câncer ou outras condições associadas com o envelhecimento (Denardin et al., 2015). Sendo assim, compostos fenólicos têm ganhado especial atenção devido a diferentes atividades biológicas: antimutagênica, anticarcinogênica, antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória, características essas que favorecem o crescente valor comercial nas áreas de nutrição, cosméticos e indústria farmacêutica. (Aires et al., 2016).

Em sua grande maioria compostos fenólicos não são encontrados no estado livre na natureza, e sim na forma de ésteres ou de heterosídeos. São solúveis em água e em

outros solventes orgânicos polares (Monteiro et al., 2005). A atividade anti-oxidante dos polifenóis ocorre por diferentes mecanismos, sendo como o mais importante, o sequestro de radicais livres (Denardin 2015).

De acordo, Halliwell (1997) os antioxidantes atuam neutralizando os radicais livres que são moléculas reativas, como os radicais hidroxilas (OH⁻), dióxido de nitrogênio (NOO⁺), ion superóxido (O₂⁻), radicais de peroxila (ROO⁺). A neutralização ocorre por que a presença do anel aromático na estrutura dos antioxidantes, permite a doação de um átomo de hidrogênio a esses radicais, que têm como característica química possuir um ou mais elétrons não pareados em seu orbital, sendo muito instáveis e reativos, podendo por esse motivo reagir com qualquer molécula em que tenha contato e capturar os seus elétrons. Uma vez neutralizados, esses radicais não serão reativos ao oxigênio e não ocorrerá a reação em cadeia, evitando assim alterações que essas moléculas causariam no nosso DNA, nas proteínas e nos ácidos graxos poliinsaturados, presentes nas nossas células.

Segundo Dernardin (2015), os polifenóis possuem alta atividade antioxidante in vitro e são capazes de eliminar várias espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e cloro, tais como radical hidroxilo, radicais peroxilo, ácido hipocloroso e ácido peroxinitrino. Eles também são capazes de sequestrar íons metálicos e, assim, diminuem a atividade pró-oxidante destes íons.

A atividade antioxidante de substâncias biologicamente ativas pode ser avaliada por diversas metodologias, como DPPH, ABTS e FRAP. Na Figura 5, pode ser observado a metodologia baseada no sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), o qual é considerado estável devido a deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. Este ensaio espectrofotométrico se baseia na medida da capacidade de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina o que produz uma diminuição da absorção a 515 nm (ALVES et al., 2010).

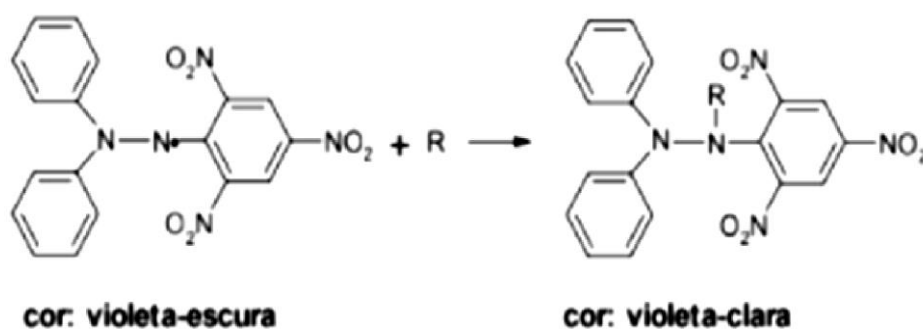


Figura 5. Estabilização do radical livres DPPH

Fonte: Rufino (2007)

A metodologia de FRAP, é baseada na capacidade de redução do ferro. No método FRAP, quando está em meio ácido, o complexo férrico-tripiridiltriazina é reduzido ao ferroso (Figura 6), ocorrendo mudança em sua coloração para azul na presença de substâncias antioxidantes (MORGADO et al., 2010).

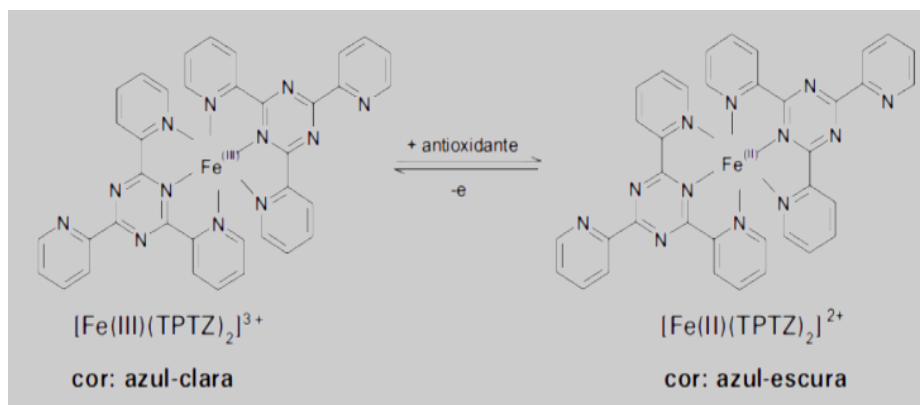


Figura 6. Reação do FRAP - Redução do complexo TPTZ com Fe³⁺.

Fonte: Rufino (2007)

O método ABTS consiste na habilidade dos antioxidantes presentes na amostra em capturar o cátion radical ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)), ocasionando mudança na coloração do meio reacional, conforme Figura 7 (Morgado et al., 2010).

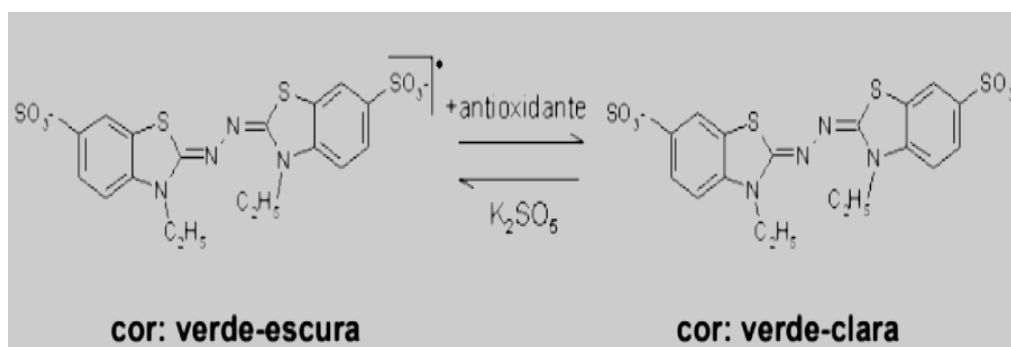


Figura 7. Reação do ABTS – Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio

Fonte: Rufino (2007)

5. Extração

Inúmeras são as técnicas para extrair antioxidantes de material vegetal, dentre elas a extração por maceração com solventes, utilização de fluido supercrítico, ultrassom, tubólise, infusão e soxhlet utilizando etanol e solvente hidroalcoólico (Leal et al., 2003; González-Centeno et al., 2015; Barbi, 2016; Zuchetto et al., 2016). Estudos relacionados a essas metodologias têm priorizado o desenvolvimento de técnicas mais eficientes e mais sustentáveis.

Do et al., (2014) afirmaram que o rendimento na extração não depende apenas do método que foi empregado, mas também está relacionado com o tipo de solvente utilizado. Para o procedimento líquido-sólido, deve-se avaliar antecipadamente as condições a serem utilizadas como o tempo, temperatura, tipo de extrator, solventes, pois o material vegetal sofrerá influência dos parâmetros empregados (González-Montelongo; Lobo; González, 2010).

Para a extração, existe uma diversidade de opções, não necessariamente existindo um método ideal para se trabalhar, pois cada amostra tem uma composição distinta e diversificada, podendo um determinado solvente ser adequado em um caso e não em outro. Parâmetros de extração como polaridade do solvente, pH, temperatura, número de etapas da extração, volume de solvente e tamanho das partículas das amostras são os fatores explorados por diversos autores (Prado, 2009; Li et al., 2006; González-Centeno et al., 2015; Barbi, 2016; Zuchetto et al., 2016)

A extração com solventes orgânicos é frequentemente utilizada para o isolamento dos compostos bioativos. No entanto, alguns solventes, como o metanol, são considerados tóxicos, desta forma, o mais habitual é o uso do etanol como solvente, por ser de cadeia mais simples e de grau alimentar (Li et al., 2006).

O rendimento da extração e a determinação da atividade antioxidante dos extratos dependem do tipo de solvente, devido às diferenças nos potenciais antioxidantes e à polaridade dos compostos (Marinova e Yanishlieva, 1997).

O tempo de extração também afeta consideravelmente a recuperação dos polifenóis. O período de extração deve variar entre 1 minuto a 24 horas. No entanto, longos

períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (Shaidi e Naczk, 1995).

A temperatura durante a extração pode afetar os compostos bioativos de diferentes maneiras. O conteúdo total de fenólicos diminui com aumento da temperatura (Conde et al., 1998). A extração sob temperaturas brandas é desejável nos casos em que alguns compostos podem ser degradados como, por exemplo, o ácido carnósico presente nos extratos de alecrim. Por essa razão usa-se a extração com fluido supercrítico que preserva a ação antioxidante dos extratos (Ibáñez et al., 1999).

6. Extração por Ultrassom

A extração realizada pelo método de ultrassom é relatada como uma técnica muito eficiente (Bonfigli, Godoy, Reinheimer, & Scenna, 2017; Kazemi, Karim, Mirhosseini, & Abdul Hamid, 2016). O método está fundamentado na formação de ondas ultrassônicas de alta frequência que provocam danos à membrana celular do material vegetal, devido a formação de bolhas (cavitação) induzidas pelos ciclos de expansão e contração da onda, efeito este que permitirá maior rendimento na extração de compostos (Espada-Bellido et al., 2017).

Sendo assim, o ultra-som é um tipo de radiação, que possui a capacidade de preservar componentes funcionais, devido à possibilidade de ser utilizado em temperaturas próximas ao ambiente, evitando a degradação térmica dos componentes termolábeis (Byron Yépez 2015). Logo, a possibilidade da extração de compostos bioativos em temperaturas relativamente mais baixas, resulta em um produto final com uma pureza mais elevada e melhor rendimento do que processos convencionais (Hani, Torkamani, 2017). Comumente aplicada em indústria, engenharia, medicina e química (Estrella Espada-Bellido, Ceferino, 2017)

Na Figura 8, é apresentado a representação esquemática dos efeitos do processo de ultrassom sobre a interface de uma matriz vegetal. Mason; Chemat; Vinatoru (2011), relata que a eficiência do processo de extração por mecanismos de ultrassom está ligada a três fatores: aumento na transferência de massa, dentre elas, temos o rompimento da estrutura celular vegetal por meio de colapsos ocasionados por cavitação (formação de bolhas), estas por sua vez aumentam a permeabilidade do tecido fazendo com que haja a liberação do material intracelular; o aumento da temperatura e pressão, ocasionado pelas

ondas ultrassônicas, na zona de implosão das bolhas, que ocasionará maior solubilidade e penetração de solventes; e por último, há maior difusão ocasionado pela microstreaming gerada pela ultrassom.

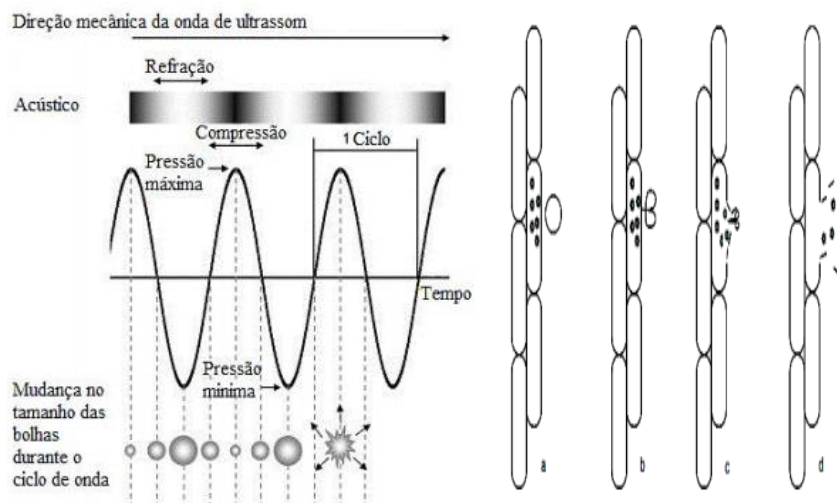


Figura 8. Representação esquemática dos efeitos do processo de ultrassom sobre a interface de uma matriz vegetal

7. Extração com Fluido Supercrítico

Fluido supercrítico (FSC) é caracterizado por qualquer substância em condições de temperatura e de pressão superior ao seu ponto crítico, em uma única fase, ou seja, não existe mais distinção entre as fases líquida e gasosa, logo o fluido não é liquefeito com o aumento da pressão, nem também não é transformado em gás pelo aumento da temperatura (Shivonen et al., 1999; Santos, 2011).

O grande destaque da técnica de extração por FSC está vinculado a capacidade de extração e encapsulação de pigmentos naturais a partir de solventes amigáveis, além de sobressair as técnicas convencionais, as quais apresentam desvantagens, como o controle deficiente do tamanho e a morfologia das partículas, a degradação e perda de atividade biológica de compostos termo-sensíveis, a baixa eficiência de encapsulação, e o baixo rendimento de precipitação (Albarelli 2011).

O solvente mais utilizado na extração por FSC é o CO₂ (Figura 9), principalmente por apresentar temperatura e a pressão críticas moderadas, além de características como ser um gás inerte, de baixo custo e de fácil obtenção, sem odor, não inflamável, eco-

amigável, com baixo ponto crítico (pressão e temperatura) e compatível à escala industrial (Barrales, Rezende 2015).

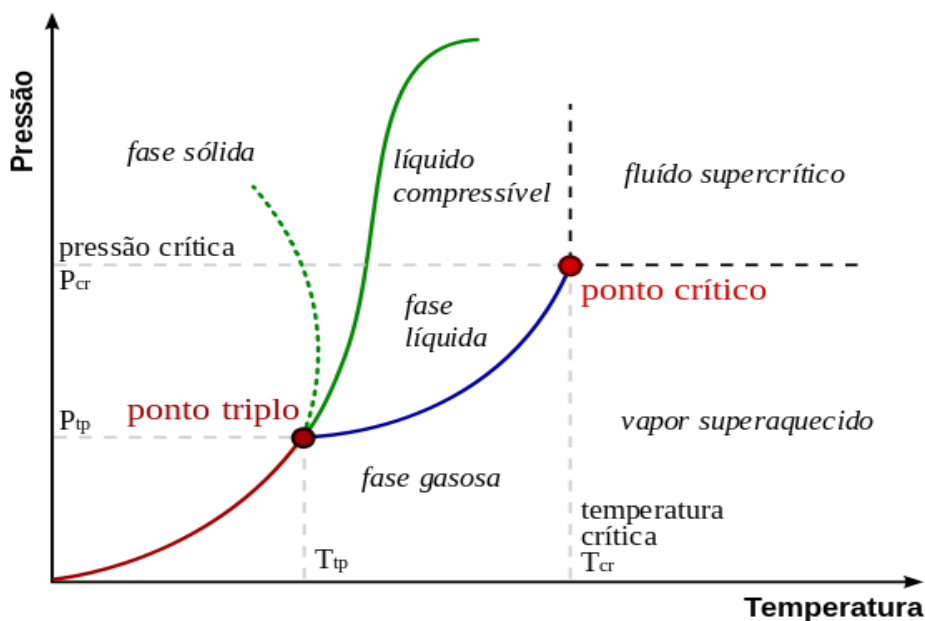


Figura 9. Diagrama pressão versus temperatura para CO₂

Para Corzzini (2017), a eficiência da extração pode ser realizada em termos de rendimento e tempo de extração, através de curvas de extração (massa de solvente versus tempo de extração) para as diferentes condições de temperatura e pressão, que estão diretamente relacionadas à concentração de soluto na matéria-prima e à solubilidade do soluto no solvente, como exemplo essas variáveis podem ser observadas na Tabela 2.

As curvas de extração apresentam três estágios, inicialmente a taxa de extração constante (CER), caracterizada por uma linha linear gráfica, que é a fração solúvel do extrato, onde a transferência de massa por convecção é predominante. Segundo, taxa de extração decrescente (FER), na qual a falha começa a ocorrer nas camadas de soluto na superfície que envolve as partículas ou o número de células quebradas não é uniforme, tanto a convecção como a difusão são importantes nesta fase. E por fim, estágio controlado por difusão (DC), no qual os locais de adsorção da superfície estão esgotados. O processo de extração é controlado pela difusão do solvente dentro das

partículas e pela difusão do soluto dissolvido da partícula para a superfície da partícula (CORZZINI, 2017).

Tabela 2. Exemplos de estudos sobre os processos extração supercrítica, em função das matérias-primas, extratos obtidos e as variáveis de processo otimizadas referenciadas na literatura.

Parâmetros	Uva	Guavirova	Pupunha
Temperatura (°C)	50	40	40
Pressão (bar)	500	250	300
Vazão	8 g / min	-	3,00 L / min
Tempo De Extração (horas)	3	2,5	1,5
Pesquisador	(Ben Mohamed Et Al., 2016)	(Capeletto Et Al., 2016)	(Espinosa-Pardo Et. Al, 2014)

8. Espectrometria de Massas

De maneira geral, a espectrometria de massa (MS "Mass Spectrometry"), é caracterizada pela formação de moléculas carregadas (íons) e fragmentos de íons, onde esses íons são separados de acordo com a sua relação massa/carga, permitindo inferir o peso molecular e a estrutura do analíto, em baixas concentrações de amostra (Watson & Sparkman, 2007). Devido sua alta sensibilidade, a velocidade de análise e vasta gama de aplicação, essa técnica tem ganhado cada vez mais espaço entre os métodos analíticos, além de contribuir para trabalhos científicos de alto impacto (Parassulo, 2017).

Diversos são os espectrômetros de massas, entretanto, todos são constituídos dos mesmos componentes básicos: sistema de introdução de amostra, fonte de ionização, analisador de massas, detector e um registrador (Skoog, Holler & Nieman, 2002). A técnica de espectrometria de massa permite identificar informações sobre a fórmula molecular de diversos compostos químicos (Watson & Sparkman, 2007). Destaca-se em análises de biomarcadores de doenças através de estudos de proteômica, metabolômica e lipidômica (Meurer, 2015).

A determinação de compostos fenólicos e de atividade antioxidante de *Muntingia calabura* Linn. também foi realizado por métodos espectrométricos por Rotta (2017).

Su et al.(2003) fizeram o isolamento dos constituintes bioquímicos da *M. calabura* utilizando a indução de quinona redutase nas folhas da planta, que resultou no isolamento de uma nova flavonona (2 R , 3 R) -7-metoxi-3,5,8-trihidroxi-flavanona, e de outros compostos bioativos já registrados na literatura como (2 S)-7-hidroxi-flavanona; (2 S)-5,7-dihydroxyflavanone (pinocembrina); (2 R , 3 R)-3,5,7-trihidroxi-flavanona (pinobanksin); (2 S)-5-hidroxi-7-methoxyflavanone (pinostrobin); 7-hidroxi-flavona; 5,7-dihydroxyflavone (crisina); 3-metoxi-5,7,4'-trihydroxyflavone (isokaemferide); 3,3'-dimetoxi-5,7,4'-trihydroxyflavon; 8-metoxi-3,5,7-trihydroxyflavone; 3,8-dimetoxi-5,7,4'-trihydroxyflavone; 3,5-di-hidroxi-7,4'-dimethoxyflavone (ermanin); 3,5-di-hidroxi-7,8-dimethoxyflavone (gnaphaliin); 5-hidroxi-3,7,8-trimethoxyflavone; 5,4'-di-hidroxi-3,7,8-trimethoxyflavone; 5-hidroxi-3,7,8,4'-tetramethoxyflavone; 2', 4'-dihydroxychalcone, 4,2', 4'-trihydroxychalcone (isoliquiritigenina); 7-hydroxyisoflavone, 7,3',4'-trimethoxyisoflavone (cabreuvin); (2 S)-5-hidroxi-7,8,3',4'-tetramethoxyflavan, 2', 4'-dihydroxydihydrochalcone, o ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico, lupenone e 2α , ácido 3β -dihydroxyolean-12-en-28-óico. Todos os isolados encontrados foram avaliados segundo suas propriedades quimiopreventivas do potencial de cancro.

Logo, é evidente que a técnica de espectrometria de massa é um método viável e promissor para se obter informações a cerca da fórmula molecular e consecutivamente dos compostos constituintes de *M. Calabura*.

9. Teste anti-proliferativo

A busca incessante por agente anti-proliferativos, que auxiliem no tratamento de câncer, tem intensificado as pesquisas com plantas medicinais. Visto que, a maioria dos tratamentos terapêuticos, como radioterapia, quimioterapia e cirurgia, ocasionam efeitos colaterais graves (Kranz e Dobbstein, 2012). Intensificando assim o uso de fito protetores de plantas com o intuito de identificar novos agentes quimioterápicos que sejam efetivos e acarretem efeitos colaterais adversos mínimos (Nasir et al 2017).

Segundo Nasir et al. (2017), além das folhas de *Muntingia calabura* (Elaeocarpaceae) serem utilizadas medicinalmente e descobertas científicas terem mostrado várias atividades farmacológicas, os efeito anticancerígeno dessa planta ainda são pouco foi investigado. Zakaria et al 2011, relataram que as folhas apresentam potenciais atividades antiproliferativas e antioxidantes, os autores atribuíram essas

propriedades ao alto teor de compostos fenólicos. As folhas de calabura também exercem potentes atividades antitirrossinas e antioxidantes (Balakrishnan et al, 2011).

Nasir et al. 2017, ao estudar os efeitos de quimio-prevenção de folhas de *Muntingia calabura* contra o câncer de cólon induzido por azoxometano (AOM) e examinar o envolvimento de antioxidantes endógenos. Identificou que as folhas da *Muntingia calabura* exerceram efeito anticancerígeno contra o câncer de cólon induzido pela AOM possivelmente através da ação de flavonoides na atividade antioxidante do tecido do cólon.

Sendo assim, teste de anti-proliferação é de interesse determinar os agentes anti-proliferativos presente na M. Calabura, a fim de contribuir para as pesquisas e consecutivamente identificação da potência de M. Calabura, podendo auxiliar em tratamento terapêuticos, como tratamento gástrico, úlceras, inflamações.

10. Referencias bibliográficas

Akpinar, E. K. (2006). Mathematical modelling of thin layer drying process under open sun of some aromatic plants, 77, 864–870. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.08.014>

Amiruddin, Z., Hijaz, M., Sani, M., Abdul, A., Lay, T., & Zaki, M. (2016). Antinociceptive effect of semi-purified petroleum ether partition of *Muntingia calabura* leaves. Revista Brasileira de Farmacognosia, 26(4), 408–419. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.12.007>

AOAC. (1990). AOAC: Official Methods of Analysis. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, (20 ed.).

Aral, S., & Be?e, A. V. (2016). Convective drying of hawthorn fruit (*Crataegus* spp.): Effect of experimental parameters on drying kinetics, color, shrinkage, and rehydration capacity. Food Chemistry, 210, 577–584. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.128>

Avhad, M. R., & Marchetti, J. M. (2016). Mathematical modelling of the drying kinetics of Hass avocado seeds. Industrial Crops & Products, 91, 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.035>

Azeez, L., Adebisi, S. A., Oyediji, A. O., Adetoro, R. O., & Tijani, K. O. (2017).

Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences Bioactive compounds ' contents , drying kinetics and mathematical modelling of tomato slices influenced by drying temperatures and time. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.03.002>

Balan, T., Sani, M. H. M., Mumtaz Ahmad, S. H., Suppaiah, V., Mohtarrudin, N., & Zakaria, Z. A. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities contribute to the prophylactic effect of semi-purified fractions obtained from the crude methanol extract of *Muntingia calabura* leaves against gastric ulceration in rats. Journal of Ethnopharmacology, 164, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.017>

Bandeira, G. N., Gomes, C. A., Barros, R., Muhammad, S., & Akhtar, Y. (2013). Insecticidal activity of *Muntingia calabura* extracts against larvae and pupae of diamondback , *Plutella xylostella* (Lepidoptera , Plutellidae). *Journal of King Saud University - Science*, 25(1), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2012.08.002>

Bataglion, G. A., da Silva, F. M. A., Eberlin, M. N., & Koolen, H. H. F. (2014). Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Research International*, 66, 396–400. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.035>

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>

Bonfigli, M., Godoy, E., Reinheimer, M. A., & Scenna, N. J. (2017). Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. *Journal of Food Engineering*, 207, 56–72. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.011>

BOTELHO, F. M., GARCIA, T. R. B., VIANA, J. L., BOTELHO, S. D. C. C., & SOUSA, A. M. B. DE. (2016). *Revista Brasileira de milho e sorgo*. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* (Vol. 14). ABMS. Retrieved from <http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/610>

Buhian, W. P. C., Rubio, R. O., & Martin-Puzon, J. J. (2017). Chromatographic

fingerprinting and free-radical scavenging activity of ethanol extracts of *Muntingia calabura* L. leaves and stems. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(2), 139–143. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.11.016>

Chaitanya, G., Kumar, B. R., Mohan, G. K., & Pradesh, A. (2011). Sridhar et al ., 632, 626–632.

Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, 172, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110>

Chen, Q., Bi, J., Wu, X., Yi, J., Zhou, L., & Zhou, Y. (2015). LWT - Food Science and Technology Drying kinetics and quality attributes of jujube (*Zizyphus jujuba* Miller) slices dried by hot-air and short- and medium-wave infrared radiation. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 759–766. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.071>

Corrêa, P. C., Oliveira, G. H. H., Botelho, F. M., Goneli, A. L. D., & Carvalho, F. M. (2010). Modelagem matemática e determinação das propriedades termodinâmicas do café (*Coffea arabica* L.) durante o processo de secagem. *Revista Ceres*, 57(5), 595–601. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000500005>

Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion*. Clarendon Press. Retrieved from https://books.google.com.br/books/about/The_Mathematics_of_Diffusion.html?id=eHANhZwVouYC&redir_esc=y

Darvishi, H., Asl, A. R., Ali Asghari, Azadbakht, M., Najafi, G., & Khodaei, J. (2014). Study of the drying kinetics of pepper. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13(2), 130–138. <https://doi.org/10.1016/J.JSSAS.2013.03.002>

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>

do Nascimento, E. M. G. C., Mulet, A., Ascheri, J. L. R., de Carvalho, C. W. P., & C?rcel, J. A. (2016). Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel. *Journal of Food Engineering*, 170, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015>

do Nascimento, E. M. G. C., Mulet, A., Ascheri, J. L. R., de Carvalho, C. W. P., & Cárcel, J. A. (2016). Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel. *Journal of Food Engineering*, *170*, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015>

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. *Food Chemistry*, *219*, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122>

Fiorentin, L. D., Menon, B. T., Alves, J. A., Barros, S. T. D. de, Pereira, N. C., & Módenes, A. N. (2010). Determinação da cinética e das isotermas de secagem do bagaço da laranja. *Acta Scientiarum. Technology*, *32*(2). <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v32i2.8242>

Fратиanni, A., Niro, S., Messia, M. C., Cinquanta, L., Panfili, G., Albanese, D., & Di Matteo, M. (2017). Kinetics of carotenoids degradation and furosine formation in dried apricots (*Prunus armeniaca* L.). *Food Research International*, *99*, 862–867. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.009>

Garcia-Perez, J. V., Ortuño, C., Puig, A., Carcel, J. A., & Perez-Munuera, I. (2012). Enhancement of Water Transport and Microstructural Changes Induced by High-Intensity Ultrasound Application on Orange Peel Drying. *Food and Bioprocess Technology*, *5*(6), 2256–2265. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0645-0>

Gomathi, R., Anusuya, N., & Manian, S. (2013). A dietary antioxidant supplementation of Jamaican cherries (*Muntingia calabura* L.) attenuates inflammatory related disorders. *Food Science and Biotechnology*, *22*(3), 787–794. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0146-1>

Goneli, A. L. D., Vieira, M. do C., Vilhasanti, H. da C. B., & Gonçalves, A. A. (2014). Modelagem matemática e difusividade efetiva de folhas de aroeira durante a secagem. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, *44*(1), 56–64. <https://doi.org/10.1590/S1983-40632014000100005>

González-Centeno, M. R., Comas-Serra, F., Femenia, A., Rosselló, C., & Simal, S. (2015). Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic

compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 506–514. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.05.027>

González-Montelongo, R., Lobo, M. G., & González, M. (2010). The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidant capacity of methanolic banana peel extracts. *Separation and Purification Technology*, 71(3), 347–355. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2009.12.022>

Hani, N. M., Torkamani, A. E., Zainul Abidin, S., Mahmood, W. A. K., & Juliano, P. (2017). The effects of ultrasound assisted extraction on antioxidative activity of polyphenolics obtained from *Momordica charantia* fruit using response surface approach. *Food Bioscience*, 17(November 2016), 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.11.002>

Hashim, N., Daniel, O., & Rahaman, E. (2014). A Preliminary Study: Kinetic Model of Drying Process of Pumpkins (*Cucurbita Moschata*) in a Convective Hot Air Dryer. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 345–352. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.048>

Henríquez, C., Córdova, A., Almonacid, S., & Saavedra, J. (2014b). Kinetic modeling of phenolic compound degradation during drum-drying of apple peel by-products. *Journal of Food Engineering*, 143, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.037>

Henríquez, C., Córdova, A., Almonacid, S., & Saavedra, J. (2014a). Kinetic modeling of phenolic compound degradation during drum-drying of apple peel by-products, 143, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.037>

Junqueira, D. J., Luiz, J., & Corr, G. (2017). LWT - Food Science and Technology Convective drying of cape gooseberry fruits : Effect of pretreatments on kinetics and quality parameters *Jo a*, 82, 404–410. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.072>

Kaleta, A., & Górnicki, K. (2010). Evaluation of drying models of apple (var. McIntosh) dried in a convective dryer. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(5), 891–898. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02230.x>

Kaneda, N., Pezzuto, J. M., Doel Soejarto, D., Douglas Kinghorn, A., Farnsworth, N.

R., Santisuk, T., ... Reutrakul, V. (n.d.). PLANT ANTICANCER AGENTS, XLVIII. NEW CYTOTOXIC FLAVONOIDS FROM *MUNTINGIA CALABURA* ROOTS*2. *Journal of Natural Prodrccr*, 54(I), 196–206. Retrieved from <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/np50073a019>

Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H., & Abdul Hamid, A. (2016). Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. *Food Chemistry*, 206, 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.017>

Kingsly, R. P., Goyal, R. K., Manikantan, M. R., & Ilyas, S. M. (2007). Effects of pretreatments and drying air temperature on drying behaviour of peach slice. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(1), 65–69. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01210.x>

Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, 126(3), 972–981. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.104>

Lalit R. Verma, L. R., R. A. Bucklin, R. A., J. B. Endan, J. B., & F. T. Wratten, F. T. (1985). Effects of Drying Air Parameters on Rice Drying Models. *Transactions of the ASAE*, 28(1), 296–301. <https://doi.org/10.13031/2013.32245>

Lewis, W. K. (1921). The Rate of Drying of Solid Materials. *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*, 13(5), 427–432. <https://doi.org/10.1021/ie50137a021>

Li, B. B., Smith, B., & Hossain, M. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.07.005>

Liana, N., Eddrina, N., Mohtarrudin, N., & Othman, F. (2017). Anticarcinogenic activity of *Muntingia calabura* leaves methanol extract against the azoxymethane-induced colon cancer in rats involved modulation of the colonic antioxidant system partly by flavonoids, 55(1), 2102–2109.

Madamba, P. S., Driscoll, R. H., & Buckle, K. A. (1996). The thin-layer drying characteristics of garlic slices. *Journal of Food Engineering*, 29(1), 75–97. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(95\)00062-3](https://doi.org/10.1016/0260-8774(95)00062-3)

Mahmood, N. D., Nasir, N. L. M., Rofiee, M. S., Tohid, S. F. M., Ching, S. M., Teh, L. K., ... Zakaria, Z. A. (2014). *Muntingia calabura* : A review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observations. *Pharmaceutical Biology*, 52(12), 1598–1623. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.908397>

Mason, T. J., Chemat, F., & Vinatoru, M. (2011). The Extraction of Natural Products using Ultrasound or Microwaves. *Current Organic Chemistry*, 15, 237–247. Retrieved from <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/coc/2011/00000015/00000002/art00007?crawler=true>

Méndez-Lagunas, L., Rodríguez-Ramírez, J., Cruz-Gracida, M., Sandoval-Torres, S., & Barriada-Bernal, G. (2017). Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *Food Chemistry*, 230, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.010>

Mghazli, S., Ouhammou, M., Hidar, N., Lahnine, L., Idlimam, A., & Mahrouz, M. (2017). Drying characteristics and kinetics solar drying of Moroccan rosemary leaves. *Renewable Energy*, 108, 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.02.022>

Midilli, A., Kucuk, H., & Yapar, Z. (2002). A NEW MODEL FOR SINGLE-LAYER DRYING. *Drying Technology*, 20(7), 1503–1513. <https://doi.org/10.1081/DRT-120005864>

Morais, D. R., Rotta, E. M., Sargi, S. C., Schmidt, E. M., Bonafe, E. G., Eberlin, M. N., ... Visentainer, J. V. (2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.036>

Oliveira, L. F. de, Nascimento, M. R. F., Borges, S. V., Ribeiro, P. C. do N., & Ruback, V. R. (2002). Aproveitamento alternativo da casca do maracuj?-amarelo (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) para produ??o de doce em calda. *Ci?ncia E Tecnologia de Alimentos*, 22(3). <https://doi.org/10.1590/S0101-20612002000300011>

Onwude, D. I., Hashim, N., & Chen, G. (2016). Trends in Food Science & Technology Recent advances of novel thermal combined hot air drying of agricultural crops. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 132–145. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.012>

PAGE, G. E. (1949). FACTORS INFLUENCING THE MAXIMUM RATES OF AIR DRYING SHELLED CORN IN THIN LAYERS. *Theses and Dissertations Available from ProQuest*. Retrieved from <https://docs.lib.purdue.edu/dissertations/AAI1300089>

Patrick, W., Buhian, C., Rubio, R. O., Lim, D., Jr, V., Janet, J., & Puzon, M. (2017). Perfis de metabolitos bioactivos e a actividade antimicrobiana de extractos etanólicos de *Muntingia calabura* L. folhas e caules, 1–7.

Patrick, W., Buhian, C., Rubio, R. O., Lim, D., Jr, V., & Martin-, J. J. (2018). Perfis de metabolitos bioactivos e a actividade antimicrobiana de extractos etanólicos de *Muntingia calabura* L. folhas e caules, 1–13.

Preethi, K., Premasudha, P., & Keerthana, K. (2012). Anti-inflammatory Activity of *Muntingia calabura* Fruits. *Pharmacognosy Journal*, 4(30), 51–56. <https://doi.org/10.5530/pj.2012.30.10>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Roberts, J. S., Kidd, D. R., & Padilla-zakour, O. (2008). Drying kinetics of grape seeds, 89, 460–465. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.05.030>

Rotta, E. M., Windson, C., Haminiuk, I., & Maldaner, L. (2017). Original article Determination of antioxidant activity and phenolic compounds of *Muntingia calabura* Linn. peel by HPLC-DAD and UPLC-ESI-MS / MS, 954–963. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13359>

Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. de, Moraes, S. M. de, Sampaio, C. de G., Pérez-Jiménez, J., & Calixto, F. D. S. (2007). Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento*, 23(2), 1–4. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

S. M. Henderson, S. M. (1974). Progress in Developing the Thin Layer Drying Equation. *Transactions of the ASAE*, 17(6), 1167–1168. <https://doi.org/10.13031/2013.37052>

- Sette, P., Salvatori, D., & Schebor, C. (2016). Physical and mechanical properties of raspberries subjected to osmotic dehydration and further dehydration by air- and freeze-drying. *Food and Bioprocess Processing*, *100*, 156–171. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.06.018>
- Silva, N. C., Santana, R. C., Duarte, C. R., & Barrozo, M. A. S. (2017). Impact of freeze-drying on bioactive compounds of yellow passion fruit residues. *Journal of Food Process Engineering*, *40*(4). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12514>
- Silva, R. B., Silva, F. S., Porto, A. G., & Pilonetto, A. A. (2016). ESTUDO DA CINÉTICA DE SECAGEM DE POLPA DE CARAMBOLA. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, *10*(2). <https://doi.org/10.3895/rbta.v10n2.3261>
- Silva, V., Figueiredo, A. R., Costa, J. J., & Guiné, R. P. F. (2014). Experimental and mathematical study of the discontinuous drying kinetics of pears. *Journal of Food Engineering*, *134*, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.02.022>
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *(50)*, 81–86. <https://doi.org/10.1021/jf010865b>
- Su, B., Jung, E., Schunke, J., Graham, J. G., Cabieses, F., Fong, H. H. S., ... Kinghorn, A. D. (2003). Activity-guided isolation of the chemical constituents of *Muntingia calabura* using a quinone reductase induction assay, *63*, 335–341. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00112-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00112-2)
- Sufian, A. S., Ramasamy, K., Ahmat, N., Zakaria, Z. A., & Yusof, M. I. M. (2013). Isolation and identification of antibacterial and cytotoxic compounds from the leaves of *Muntingia calabura* L. *Journal of Ethnopharmacology*, *146*(1), 198–204. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.032>
- Sunjka, P. S., Rennie, T. J., Beaudry, C., & Raghavan, G. S. V. (2004). Microwave-Convective and Microwave-Vacuum Drying of Cranberries: A Comparative Study. *Drying Technology*, *22*(5), 1217–1231. <https://doi.org/10.1081/DRT-120038588>
- T. L. Thompson, T. L., R. M. Peart and G. H. Foster, R. M., & Foster, G. H. (1968). Mathematical Simulation of Corn Drying — A New Model. *Transactions of the ASAE*,

11(4), 0582–0586. <https://doi.org/10.13031/2013.39473>

Tao, Y., Wang, P., Wang, Y., Kadam, S. U., Han, Y., Wang, J., & Zhou, J. (2016). Power ultrasound as a pretreatment to convective drying of mulberry (*Morus alba* L.) leaves: Impact on drying kinetics and selected quality properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, *31*, 310–318. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.012>

Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q. A., & Sun, D. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, *21*(2), 706–715. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.09.005>

Tao, Y., Zhang, Z., & Sun, D. W. (2014). Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature. *Ultrasonics Sonochemistry*, *21*(4), 1461–1469. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.01.029>

V. L. Singleton, J. A. R., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144>

Vega-G?lvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Mart?nez-Monz?, J., Garc?a-Segovia, P., ... Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, *132*(1), 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.029>

Vega-G?lvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Mart?nez-Monz?, J., Garc?a-Segovia, P., ... Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, *132*(1), 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.029>

Workneh, T. S., & Oke, M. O. (2013). Thin Layer Modelling of Microwave-Convective Drying of Tomato Slices. *International Journal of Food Engineering*, *9*(1), 75–90. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2012-0205>

Y. I. Sharaf-Eldeen, Y. I., J. L. Blaisdell, J. L., & M. Y. Hamdy, M. Y. (1980). A Model

for Ear Corn Drying. *Transactions of the ASAE*, 23(5), 1261–1265.
<https://doi.org/10.13031/2013.34757>

Yasunaka, K., Abe, F., Nagayama, A., Okabe, H., Lozada-p, L., Edith, L., & Mu, E. E. (2005). Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthones, 97, 293–299.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.014>

Zakaria, Z. A., Mohamed, A. M., Hussain, M. K., Sulaiman, M. R., Teh, L. K., Salleh, M. Z., ... Selangor, U. I. (2011). In Vitro Antiproliferative and Antioxidant Activities of the Extracts of *Muntingia calabura* Leaves, 39(1), 183–200.
<https://doi.org/10.1142/S0192415X11008749>

Zielinska, M., & Michalska, A. (2016). Microwave-assisted drying of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits: Drying kinetics, polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, colour and texture. *Food Chemistry*, 212, 671–680.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.003>

CAPITULO I: Mathematical modeling of the thin layer drying of calabura peel (*Muntingia calabura*) and the effect of drying temperatures on bioactive compounds

Luciana Alves da Silva-Tavone^{a*}, Kauyze Matos Nascimento^a, Suelen Siqueira dos Santos^b, Rita de Cássia Bergamasco^a, Mônica Regina da Silva Scapim^a

^aDepartment of Food Engineering, State University of Maringá - UEM, Colombo Avenue, 5790, Maringá, Paraná – Brazil.

^bFood Science Postgraduate, State University of Maringá - UEM, Colombo Avenue, 5790, Maringá, Paraná – Brazil.

*Corresponding author: luciana.alvestavone@gmail.com, +55 (43) 99827-3420.

ABSTRACT

Muntingia calabura fruits are rich in bioactive compounds such as antioxidants. This study aimed to select the best mathematical model to describe drying curves, calculate effective diffusion and thermodynamic properties, and evaluate the effects of drying on phenolic compounds and antioxidant activity of the *M. calabura* peel. The *M. calabura* peel were exposed to drying kinetics by the forced air convection method at 40, 50 and 60 °C and, for purposes of correlating the temperature effects on the bioactive compounds, drying was performed by lyophilization. The logarithmic model was selected to represent the drying kinetics, the effective diffusion coefficient decreased 74% with the temperature rise from 40 °C to 60 °C. It was observed that the increase in the drying temperature had a positive effect on the conservation of the bioactive compounds, thus, the drying at 60 °C is the most suitable to conduct the process.

Key words: effective diffusion coefficient, lyophilization, antioxidant activity, phenolic compounds

1. Introduction

Muntingia calabura L. is a fruit grown in Southeast Asia and Central and South America (Buhian, Rubio and Martin-Puzon, 2017). Known popularly as both calabura or cherry jamaica, the plant belongs to the family *Elaeocarpaceae*, the only species in

the genus *Muntingiaceae* (Gomathi, Anusuya and Manian, 2013; Liana et al., 2017). Its fruit is rounded, sweet, red in a state of advanced maturation, with small seeds, which can be consumed both in natura and in jellies, jams and teas (Kubola, Siriamornpun and Meeso, 2011).

The consumption of calabura fruits has been recommended due to the presence of carbohydrates, vitamin C, vitamin A, fiber, phosphorus and other antioxidant compounds (Machado et al., 2013). Different parts of calabura have been used in popular medicine, such as in the treatment of stomach pain, headache and as antiseptic agent (Mahmood et al., 2014; Yasunaka et al., 2005). Scientific studies on calabura have shown that stems, flowers, roots and fruits of the plant have antinociceptive properties (Amiruddin et al., 2016), anticarcinogenic activity (Liana et al., 2017), anti-diabetic activity (Chaitanya et al., 2011), antimicrobial activity (Patrick et al., 2017, Sufian et al., 2013) and quinone reductase activity (Suet et al. al., 2003). Studies have also been carried out to evaluate the insecticidal effect of extracts of flowers and fruits of Calabura (Bandeira et al., 2013).

Natural antioxidants, found in fruits and vegetables, cooperate in endogenous elimination of free radicals, this effect is helpful to prevent diseases such as cancer and aid in delaying cellular aging. In relation to fruits, when compared to retention rates of bioactive compounds, peels and seeds, they present higher retention rates than pulps (Morais et al., 2015).

The use of drying in fruits, seeds, peels and other foods, is the oldest conservation technique that exists, because it reduces the moisture content and ends up delaying the reactions of deterioration by microbial growth (Henríquez et al. (Silva et al., 2009), it promotes the conservation of bioactive compounds from the product during storage for long periods (Silva et al., 2014), avoiding water interference in the extraction process of antioxidant compounds (Garcia-Perez et al., 2012) the availability of the material throughout the year. The hot air drying is the most commonly used in food area, since it is a low investment process, however, high temperatures can affect the sensorial, nutritional and functional characteristics of the products (Onwude, Hashim and Chen, 2016; et al., 2016).

In this way, kinetics of thin-layer drying have been applied in plant material, such as pears (Silva et al., 2014), apples (Vega-Gonçalves et al., 2012; Kaleta and Górnicki, 2010), passion fruit (Nascimento, do *et al.*, 2016), rosemary leaves (Mghazli et al., 2017), tomatoes (Azeez et al., 2017; Workneh and Oke, 2013), avocado (Avhad and

Marchetti, 2016), hawthorn fruits (Aral and Bese, 2016) and grape seed (Roberts, Kidd and Padilla-zakour, 2008), because through the data collected it is possible to know the mechanisms of heat and mass transfer, such as activation and effective diffusion energy, as well to improve procedures and improve the quality of the products (BOTELHO et al., 2016; Chen et al., 2015).

Midilli, Kucuk, & Yapar (2002) theoretical and semi-empirical mathematical models are used to estimate the ideal time and to obtain drying curves, describing the physical characteristics of the analyzed material. The usual models used for fruits and vegetables are Newton, Midilli, Page, Valcan, Logarithmic, Henderson-Pabis.

As in the literature there are no reports of drying kinetics of *M. calabura* and what are the effects on the bioactive compounds of the fruit peel, the objective of the study was to select the best mathematical model to describe drying curves, calculate effective diffusion and thermodynamic properties, and evaluate the effects of drying on phenolic compounds and antioxidant activity of the calabura peel.

2. Material and methods

2.1. Material

Calabura (*Muntingia calabura*) mature calves were harvested at the headquarters campus of the State University of Maringá (UEM) in the city of Maringá-Paraná (latitude: 23 ° 25'31 "S; Longitude: 51 ° 56'19" W). The fruits were selected and sanitized with sodium hypochlorite solution at 200 ppm for 15 minutes (min) at 25 °C, then rinsed with distilled water, cut in the middle for separation of the peel and pulp. The peels were divided in two parts: one part frozen at -18 ± 1 ° C to be used in the lyophilization process and the other part conducted for drying kinetics.

2.2. Forced convection drying process

The forced convection drying process of the calabura peel was determined in triplicate at temperatures of 40, 50 and 60 ± 2 ° C. The peels were uniformly distributed in trays and placed in a greenhouse with recirculation of air, at a constant speed of 1m/s.

The kinetics were obtained by periodic weighing of the peels in a semi-analytical electronic scale (Model RS232-MogiGlass) with a 0.001g resolution. The reading intervals were 15 minutes in the first hour, 30 minutes during the six hours and then every 60 minutes, until the fruit peels reached a constant mass (equilibrium water

content) with the lower final moisture content to 0.10 ± 0.01 g water / g peel, according to the literature (Aral & Bese, 2016; Tao, Zhang, & Sun, 2014).

2.3. Moisture content

The mean initial moisture content of the peel was determined using a hot air oven (Model MA035 / 1) according to AOAC method 934.06 (AOAC, 1990) at 105 ± 1 ° C for 24 hours in triplicate.

2.4. Mathematical Models

To determine the values of the moisture content of the calabura (MR) fruits' peel at any time the equation was used (1):

$$MR = \frac{(Mx - Mx_0)}{(Mx_i - Mx_0)} \quad (1)$$

where, MR is the water content ratio (dimensionless value), Mx is the water content of the product represented on dry basis (b.s); Mx₀ is the equilibrium water content of the product (b.s.) and Mx_i is the initial water content of the product (b.s).

For the adjustments of the mathematical models, the non-linear regression analysis was used by the Gauss-Newton Method to obtain the constants of the mathematical models selected. In order to evaluate each model, the coefficient of determination (R^2) (eq.2), Chi -square test (X^2) (eq.3) and square root mean error (RMSE) (eq.4), aiming to consider the responses observed experimentally and established by the model. According to the literature, the closer to 1 the value of R^2 and the closer values of zero of X^2 and RMSE, the better the adjustment quality for the model (Aral and Bese, 2016; Chen et al., 2015).

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (MR_i - MR_{pre}) * \sum_{i=1}^n (MR_i - MR_{obs})}{\sqrt{[\sum_{i=1}^n (MR_i - MR_{pre})^2] * [\sum_{i=1}^n (MR_i - MR_{obs})^2]}} \quad (2)$$

$$X^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(MR_{obs} - MR_{est})}{GLR} X^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(MR_{obs} - MR_{est})}{GLR} \quad (3)$$

$$RMSE = \sqrt{\left(\frac{\sum_{i=1}^n (MR_{obs} - MR_{est})^2}{GLR}\right)} \quad (4)$$

where, MR_{Obs} is the value observed experimentally; MR_{Est} the value calculated by the model and GLR the degree of freedom of the model (observations minus the number of parameters of the model).

In order to adjust the experimental data collected during the drying process of the *M. calabura* peel, the most commonly used mathematical models for plant products were selected (Table 1).

Table 1. Mathematical models used in *Muntingia calabura* drying kinetics

Name of model	Mathematical expression.	References
Diffision Approach	$MR=a \exp(-kt)+(1-a) \exp(-kbt)$	(Kassem, 1998)
Two Term	$MR=a \exp(-k_1t)+b \exp(-k_2t)$	(Y. I. Sharaf-Eldeen, J. L. Blaisdell, & M. Y. Hamdy, 1980)
Henderson e Pabis	$MR=a \exp(-kt)$	(S. M. Henderson, 1974)
Logaritmica	$MR=a \exp(-kt)+c$	(Kingsly, Goyal, Manikantan, & Ilyas, 2007)
Midilli <i>et.al.</i>	$MR=a \exp(-kt^n)+bt$	(Midilli et al., 2002)
Newton	$MR=\exp(-kt)$	(Lewis, 1921)
Page	$MR=\exp(-kt^n)$	(Page, 1949)
Thompson	$MR=\exp(-a-(a^2+4bt)^{0.5}/(2b))$	(T. L. Thompson, R. M. Peart and G. H. Foster, & Foster, 1968)
Valcam	$MR=a+bt+ct^{1.5}+dt^2$	(Madamba, Driscoll, & Buckle, 1996)
Verma	$MR=a \exp(-k_1t) +(1-a) \exp(-k_2t)$	(Lalit R. Verma, R. A. Bucklin, J. B. Endan, & F. T. Wratten,

2.5. Determination of the effective diffusion coefficient

To obtain the thickness (L) of the calabura peel, a digital micrometer was used, the average thickness was calculated based on 90 repetitions, 30 fruit peels were evaluated, and in each peel the thickness was evaluated in three different points. The average value found for the thickness of the peel was 0.176 mm.

The shape of the calabura peel was geometrically similar to a flat plate, considering that the determination of the effective diffusion coefficient of the three drying temperatures (40, 50 and 60 ° C) was based on the theory of liquid diffusion, which considers the geometric form of the product to approximate eight terms, based on Fick's second law (Eq. 5) (Darvishiet al., 2014). According to Crank (1975) when the drying times are very long, the use of the first term of the expression already provides a good estimate of the solution.

$$MR = \frac{(Mx - Mxo)}{(Mxi - Mxo)} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[-(2n+1)^2 \pi^2 Di \left(\frac{t}{4L^2} \right) \right] \quad (5)$$

Where, MR is the ratio of water content (dimensionless value); "n" is the number of terms in the model; D denote the effective diffusion coefficient ($m^2 s^{-1}$); "t" the drying time (s); L the thickness of the product (m).

The activation energy, which shows the behavior of the effective diffusion coefficient, for the temperatures (40, 50 and 60 °C) used in the drying kinetics, was calculated by the Arrhenius equation (6).

$$Di = Do \exp \frac{-Ea}{RTab} \quad Di = Do \exp \frac{-Ea}{RTab}$$

(6)

where, Do is the pre-exponential factor; Ea the activation energy ($KJ mol^{-1}$); R is the universal gas constant ($8,134 kJ kmol^{-1}.K^{-1}$) and Tab is the absolute temperature (K).

2.6. Thermodynamic Properties

The thermodynamic properties, associated to the drying process, were determined according to the method proposed by Jideani & Mpotokwana (2009). Disposed in Equations (7), (8) and (9), respectively, specific enthalpy, specific entropy and Gibbs Free energy.

$$\Delta H = E_a - RT_a \Delta H = E_a - RT_a \quad (7)$$

$$\Delta S = R \left(\ln D_0 - \ln \frac{k_b}{h_p} - \ln T_a \right) \Delta S = R \left(\ln D_0 - \ln \frac{k_b}{h_p} - \ln T_a \right) \quad (8)$$

$$\Delta G = H - T_a S \quad (9)$$

where, H is the specific enthalpy (J mol⁻¹); S is the specific entropy (J mol⁻¹ K⁻¹); G is Gibbs free energy (J mol⁻¹); k_B the Boltzmann constant (1,38 x 10⁻²³ J K⁻¹) and h_P the Planck's constant (6.626 x 10⁻³⁴ J s⁻¹).

2.7. Lyophilization Drying Process

The samples of frozen peel at -18 ± 1 ° C were subjected to the lyophilization process with the aid of equipment (CHRIST Mark - Model Alpha 1-2 LDplus) for 24 hours. The moisture was removed during lyophilization at -58 ° C and vacuum of 0.040 mbar. The conditions of time, temperature and pressure were monitored during the dehydration period by the equipment panel, in order to supervise the process.

2.8. Preparation of the calabura peel sample

The dried peels by forced convection and lyophilization were ground in an industrial blender (Modelo JI Colombo, 700 Watts), to obtain a flour and sieved in Tyler to select sizes of particles between 20 and 60 mesh. The samples were identified by drying method (40, 50, 60 °C and lyophilization), packed in vacuum-laminated polyethylene bags, to reduce losses of photosensitive compounds, and stored in a standard freezer at -18°C to preserve them.

2.9. Ultrasonic and conventional assisted extraction

The extraction of the bioactive compounds from the calabura peel was performed by ultrasonic bath in indirect contact (Model USC - 1400) with ultrasonic frequency of 40

kHz and ultrasonic power of 135 Watts RMS and by the method of extraction by maceration (conventional), where extraction was performed in the same ultrasonic bath equipment, but with the machine switched off. The extraction conditions (time, temperature and solvent) for both methodologies were identical for comparison purposes.

The extracts were obtained with modifications of the Singh method, ChidambaraMurthy, & Jayaprakasha (2002). Samples of peel at a ratio of 1:25 mg / mL (peel / solvent), quantities defined in preliminary tests, with a total volume of 100 mL, were placed in Erlenmeyer flask and homogenized for 5min in a homogenizer (Model 752A- Fisatom) at a temperature of 25 °C. Simultaneously, the Erlenmeyer flasks were coupled to the ultrasonic equipment and initiated the application of the desired extraction method, ultrasonic or conventional assisted extraction.

The experimental conditions and their ranges were based on the literature (Espada-Bellido et al., 2017; Hani, Torkamani, ZainulAbidin, Mahmood, & Juliano, 2017; Tao, Wu, Zhang, & Sun, 2014) and preliminary used the time of 45 minutes, temperature of 40 °C and hydroalcoholic solution of ethanol 25%.

2.10. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) by ABTS

The ABTS radical assay was performed according to Re et al. (1999) and Rufino et al. (2007). The solution of 2,2'-azino-bis- (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (7 mmol L⁻¹) was combined with potassium persulfate (PP) (140 mmol L⁻¹), in a proportion of 5 mL ABTS stock solution with 88 µL of potassium persulfate solution, kept at rest, at 25 °C for 16 h in the absence of light, where the ABTS + radical is formed. The mixture was diluted in ethanol AP to an absorbance value between 700 ± 1 nm at 734 nm in FEMTO-700 PLUS model equipment. For the analysis, an aliquot of 30 µL of extract sample and 3 mL of ABTS • + radical was used. After 6 minutes, a wavelength of 734 nm was read. The calibration of the equipment was done with ethanol PA. The values of the absorbances in triplicate were calculated from the Trolox standard curve (2 mmol L⁻¹ 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid in ethyl alcohol), the results being expressed in µMTrolox / g sample.

1.1.Iron Reduction Power (FRAP)

The method was determined according to Benzie & Strain (1996) where the FRAP solution was prepared by the combination of acetate buffer (300 mmol L⁻¹), ferric chloride hexahydrate solution (FeCl₃) (20 mmol L⁻¹) and tripyridyltriazine solution (TPTZ) (10.0 mmol L⁻¹ in 1.00 mol L⁻¹ hydrochloric acid-HCl) in a ratio of 10: 1: 1 (v: v: v), the solution was used immediately for its preparation. 90 µL of extract, 270 µL of distilled water and 2.7 µL of the FRAP reagent was transferred to all assay, homogenized in a tube shaker and incubated at 37 °C in a water bath for 30min, the absorbance reading was measured in length 595 nm. Used the FRAP reagent as blank for calibration. The antioxidant potential of the extracts in triplicate was determined based on the calibration curve, drawn using Ferrous Sulfate (FeSO₄) (2 mmol L⁻¹), and expressed in µM FeSO₄ / mg sample.

2.11. Total Phenolic Compounds (TPC)

The content of total phenolic compounds (TPC) was determined by the Folin-Ciocalteu (FC) spectrophotometric method, according to Singleton & Rossi (1965). Briefly, a 125 µL aliquot of extract was transferred to a test tube where 125 µL of the 50% FC reagent and 2250 µL Sodium Carbonate (Na₂CO₃ - 3.79 M) were added. The reaction was rested for 30 minutes in the absence of light. For the calibration sample, 125 µL of Gallic Acid was used as the reference standard, plus 125 µL of the FC reagent and 2250 µL of Sodium Carbonate. The same procedure was used for the sample. The absorbance reading was performed using a spectrophotometer with a wavelength of 725 nanometers (nm). The quantification of total phenols in the extracts, in triplicate, were expressed in mg Gallic Acid / 100 g of sample, using the standard curve of gallic acid.

2.12. Statistical analysis

The experimental data were recorded with mean ± standard deviation and three replicates were made for each sample. The results were analyzed by the analysis of variance method (ANOVA), followed by the Tukey test with 95% confidence interval, using Statistica 8.0 software.

3. Results and discussion

3.1. Drying kinetics and thermodynamic properties

The peel of *M. calabura* fruits submitted to drying at temperatures of 40 to 60 °C presented an initial mean moisture content of 3.00 ± 0.495 g of water / 100g of dry matter (decimal b.s.). Figure 1 shows how the loss of moisture (b.s.) occurred in relation to the drying time of the peels, and it is possible to analyze the effect of the different temperatures in relation to the drying rate. The time required to dry the peels at an equilibrium moisture content of 0.0123 ± 0.001 ; 0.0139 ± 0.001 and 0.0135 ± 0.001 (b.s.) was 990, 690 and 510 min at 40, 50 and 60 °C, respectively.

The time needed to reach the equilibrium moisture of the sample decreased with increasing temperature, ie at 40 °C it took 30% longer time than 50 °C, 26% between 50 and 60 °C and the greatest reduction occurred between 40 and 60 °C (48%).

According to Fiorentin et al. (2010) this difference between the drying times of 40 and 60 °C occurs because at higher temperatures the sample reduces its moisture faster at the beginning of the drying and therefore the drying time is required will be lower. The phenomenon was also observed by Kaleta & Górnicki (2010) in drying apple peels, Oliveira et.al. (2002) for pear slices, Zielinska & Michalska (2016) on blueberry fruits. It is also worth mentioning that at the initial 60 min of drying a higher reduction of humidity was observed for the higher temperature, and at 60 °C the humidity was 22.8% lower than at the temperature of 40 °C and 14.03% 50 °C.

According to Fratianni et al. (2017), the temperature used in drying is related to the internal diffusion of the sample, which is responsible for the loss of water in the process, as the internal resistance for the conduction of the water in the liquid state increases, decreases the speed of drying.

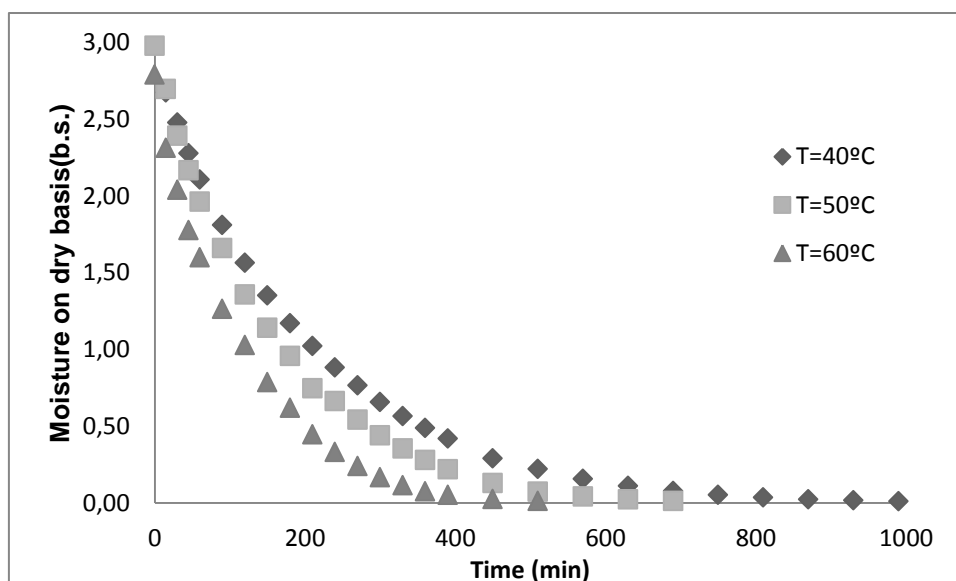


Figure 1. Moisture on dry basis (b.s.), as a function of drying time of *M. calabura* peels at different temperatures. The moisture in dry basis was determined by the equation $b.s = (M_{ag} - M_{ss})$ where: M_{ag} is the amount of water and M_{ss} the amount of solids mass in the sample.

With the drying process, the moisture contents found for each time were used to calculate the experimental values of humidity (MR), which, in turn, were used to adjust the ten mathematical models chosen (Table 1). The comparison between the values of the moisture ratio (MR) observed versus the MR predicted by the mathematical models are presented in Figures 2, 3 and 4. According to Corrêa et al. (2010) the figure was constructed to improve the comprehensiveness of the adjustment of the models used to the data obtained in the drying, being able to affirm that the closer the experimental data are on the line, the greater the equality between the values. Analyzing the figures, it is possible to state that the experimental and predicted data are well adjusted, since R^2 approaches the absolute value of 1 in all cases.

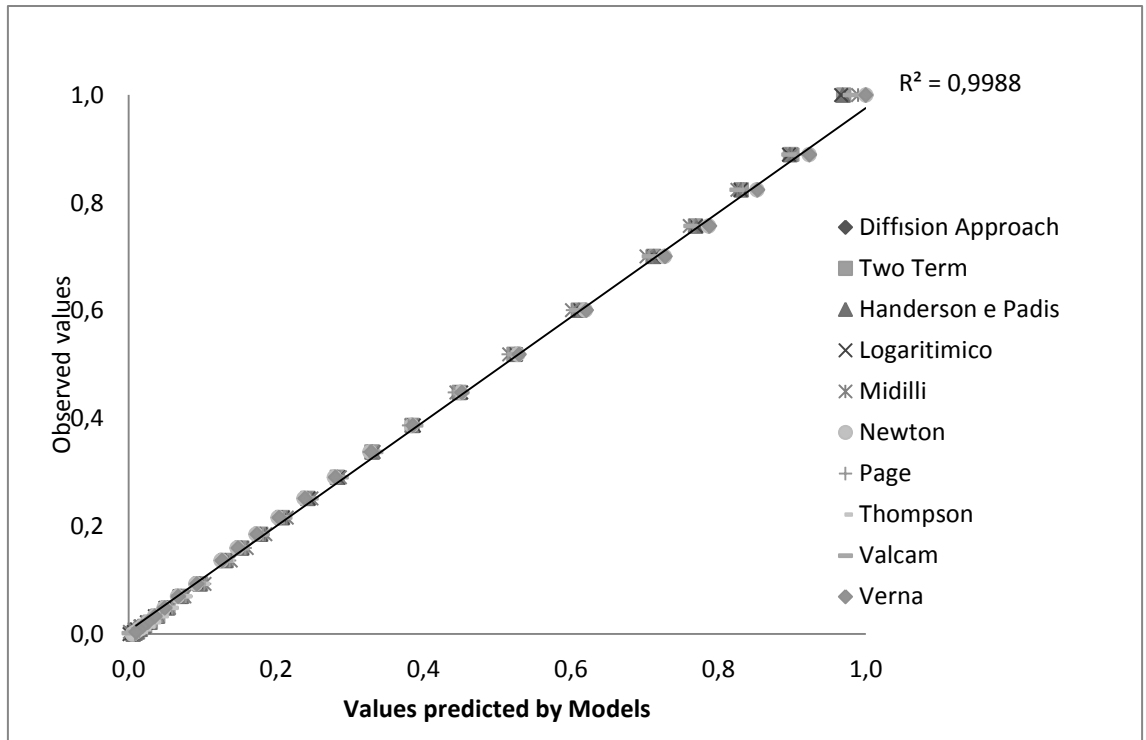


Figura 2. Moisture ratio values observed and predicted by the ten mathematical models during the drying of the Muntingia calabura peel at a temperature of 40 °C.

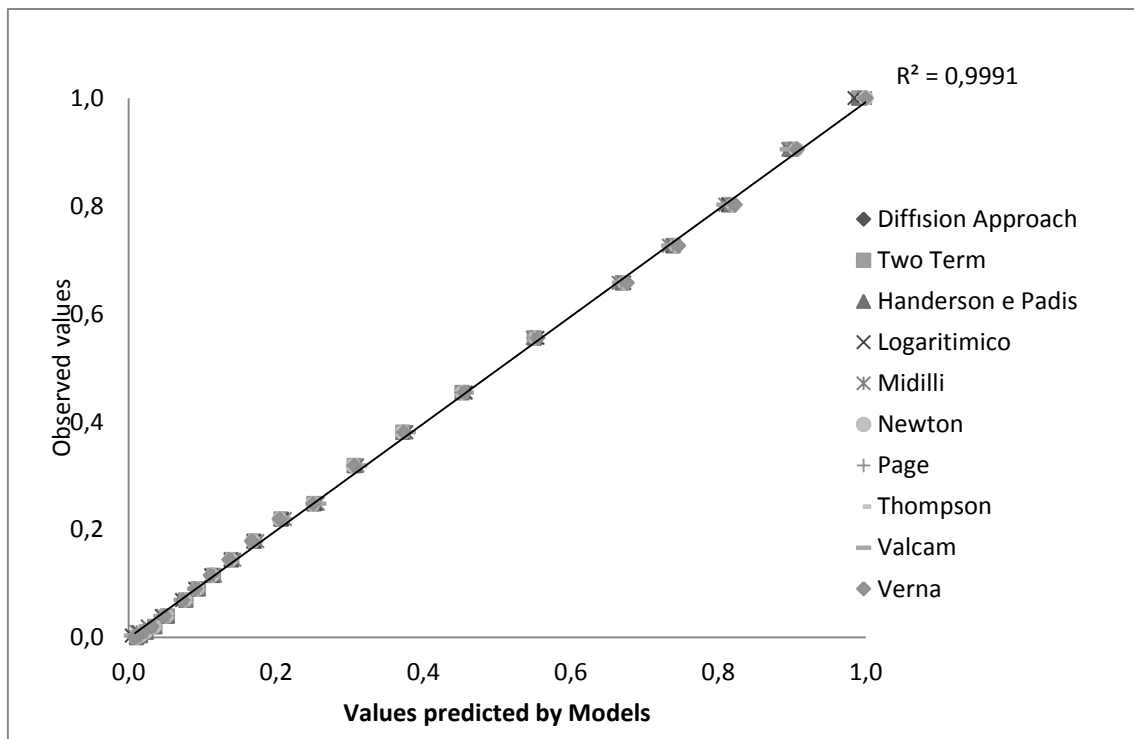


Figura 3. Moisture ratio values observed and predicted by the ten mathematical models during the drying of the Muntingia calabura peel at a temperature of 50 °C..

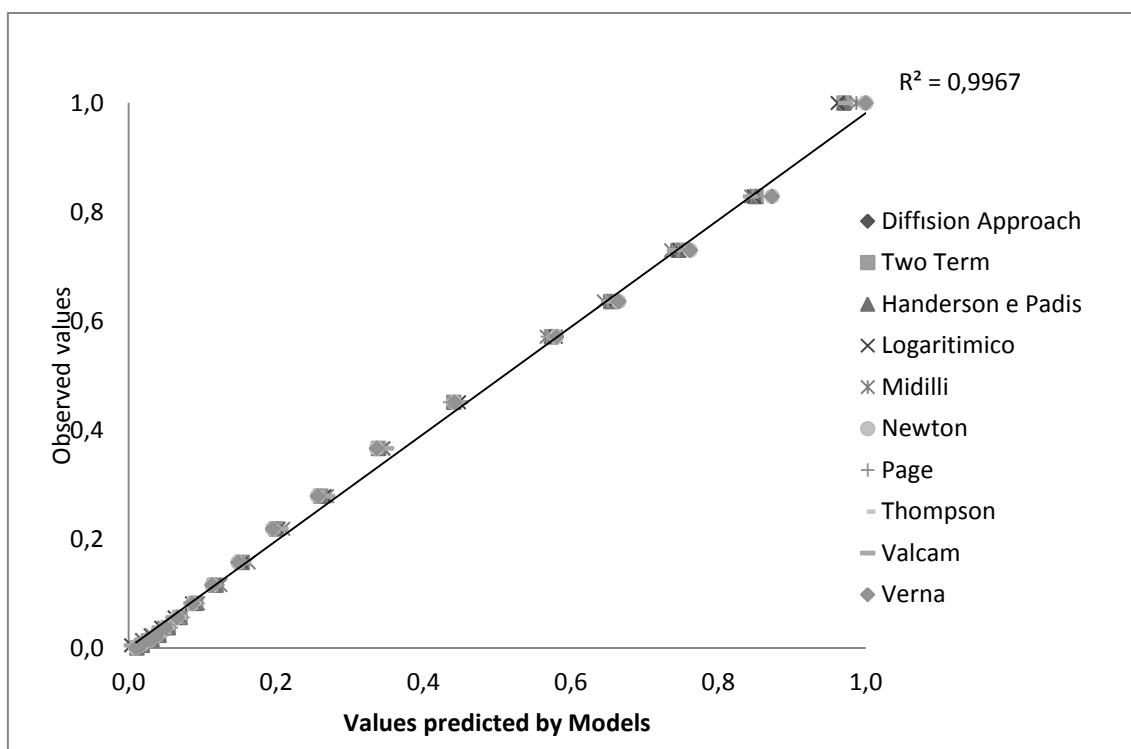


Figura 4. Humidity ratio values observed and predicted by the ten mathematical models during the drying of the *Muntingia calabura* peel at a temperature of 60 °C.

In order to evaluate the quality of the adjustments, the highest values of R^2 and the lowest values of X^2 and RMSE were used as the criterion for comparison. Table 2 indicates all the values found for each model, and all models presented values greater than 0.99 for R^2 and less than 0.0004 for X^2 and 0.01 for RMSE. Regarding the comparison criteria, the models that presented the best adjustments for the three drying temperatures (40, 50 and 60°) were the Midilli models, followed by Valcan and Logarithmic models. All the values of the R^2 coefficient were very close to the absolute value, this phenomenon can be described by the precision in the linearization of the moisture content (Roberts, Kidd and Padilla-zakour, 2008). In food-drying studies, similar results were found in slices of tomato, strawberry, gooseberry, hawthorn and apple (Aral and Bese, 2016; Azeez et al., 2017; Junqueira, Luiz and Corr, 2017; Kaleta and Górnicki, 2010 ; Mendez-Lagunas et al., 2017).

Table 2. Coefficients of determination (R^2 , decimal), Chi-square test (X^2 , decimal) and square root mean error (RMSE, decimal) for the ten mathematical models used to describe the drying process of *Muntingia calabura* peel at 40, 50 and 60 ° C.

Model Name	Drying temperatures								
	40°C			50°C			60°C		
	R ²	χ^2	RMSE	R ²	χ^2	RMSE	R ²	χ^2	RMSE
Diffision Approach	0,9989	0,00023	0,01503	0,9995	0,00012	0,01117	0,9979	0,00046	0,02155
Two Term	0,9996	0,00010	0,00989	0,9995	0,00012	0,02203	0,9985	0,00036	0,01897
Henderson e Pabis	0,9996	0,00009	0,00950	0,9995	0,00011	0,01043	0,9985	0,00031	0,01774
Logaritmic	0,9996	0,00009	0,00938	0,9997	0,00007	0,00863	0,9989	0,00025	0,01588
Midilli et.al.	0,9999	0,00003	0,00542	0,9998	0,00005	0,00696	0,9993	0,00017	0,01314
Newton	0,9989	0,00021	0,01442	0,9994	0,00012	0,01075	0,9979	0,00041	0,02024
Page	0,9996	0,00009	0,00927	0,9995	0,00011	0,01067	0,9983	0,00035	0,01879
Thompson	0,9992	0,00017	0,01292	0,9995	0,00012	0,01099	0,9980	0,00043	0,02079
Valcam	0,9998	0,00004	0,00650	0,9998	0,00004	0,00628	0,9994	0,00015	0,01205
Verma	0,9989	0,00023	0,01501	0,9995	0,00012	0,01117	0,9979	0,00046	0,02155

The models of Midilli and Valcam are models that present four coefficients while the Logarithmic model presents only three coefficients (a, c, k). Thus, the logarithmic model was chosen as the best model to represent the drying phenomenon of *M. calabura* peel, in view of its simplicity in relation to the others.

Table 3. Drying constants of the mathematical models analyzed during the drying of the *Muntingia calabura* peel at 40, 50 and 60 °C.

Model name	Temperature (°C)	Constants
Diffision Approach	40	a=3,6706 b=1,0006 k=0,0053
	50	a=4,4940 b=0,9621 k=0,0057
	60	a=4,1351 b=1,0007 k=0,0091
Two Term	40	a1=0,4871 a2=0,4831 k1=0,0057 k2=0,0046
	50	a1=0,4952 a2=0,4953 k1=0,0065 k2=0,0065
	60	a1=0,4853 a2=0,4853 k1=0,0087 k2=0,0087
Henderson e Pabis	40	a=0,9688 k=0,0051
	50	a=0,9906 k=0,0065
	60	a=0,9706 k=0,0087
Logaritmico	40	a=0,9720 c=0,0051 k=0,0050
	50	a=1,0000 c=0,0150 k=0,0062

	60	a=0,9832 c=0,0211 k=0,0082
Midilli	40	a=0,9898 b=0,0000 n=0,9219 k=0,0078
	50	a=0,9992 b=0,0000 n=0,9510 k=0,0082
	60	a=0,9875 b=0,0000 n=0,9090 k=0,0132
Newton	40	k=0,0053
	50	k=0,0066
	60	k=0,0091
Page	40	n=0,9318 k=0,0076
	50	n=0,9836 k=0,0072
	60	n=0,9495 k=0,0115
Thompson	40	a=-177,62 b=7,8483
	50	a=-152,507 b=0,7092
	60	a=-108,71 b=1,0536
Valcan	40	a=0,9792 b=-0,0067 c=0,0003 d=0,0000
	50	a=0,9976 b=-0,0085 c=0,0004 d=0,0000
	60	a=0,9727 b=-0,0109 c=0,0006 d=0,0000
Verma	40	a=-3,9001 k1=0,0054 k2=0,0053
	50	a=-3,3846 k1=0,0055 k2=0,0057
	60	a=-4,3111 k1=0,0090 k2=0,0091

The coefficient of the mathematical models is related to the drying temperature and the moisture content of the sample. The values of k are directly related to the drying temperatures, that is to say, the values of k increase gradually as the temperature increases because it is associated with the ease of removing moisture from the sample. This phenomenon can be easily seen in Table 3, where for all the described models there was a favorable addition for each drying temperature. In comparison, the values for the Midilli constants were higher among the chosen models.

The second Law of Fick describes very well the dynamic behavior of the drying process during the period of decreasing rate of transfer of humidity in relation to time (Fig 7), since the effective diffusion (Def) is the main mechanism of mass transfer (Henriquez et al., 2014b). The increase in temperature affected directly the effective diffusion of the sample, since as observed in Tab 4 there was a decrease of 74% in Def when compared to temperatures of 40 °C and 60 °C. Similar values were found in the literature for fruits and vegetables under conditions of similar temperatures, being Def values between 15.30E-09 m² s⁻¹ for apple (Vega-Galvez et al., 2012). In the drying

procedures, the ratio is defined that the lower the activation energy the greater the water diffusivity in the product.

The activation energy was calculated through the Arrhenius graph (Fig. 6), where we have $\ln(D_{eff})$ versus $1/T$ (absolute temperature in Kelvin). From the slope of the line it is possible to calculate the activation energy (E_a), the average value for the three drying temperatures (40,50 and 60 °C) employed in the calabura peel was 23.96 kJ mol⁻¹. Galaz et al. (2017) found rate of 58.9 kJ.mol⁻¹ for pomegranate peel and Do Nascimento et al. (2015) value of 43.86 kJ.mol⁻¹ for passion fruit peel, compared to the activation energy found for the calabura peel, it is stated that the structure of the material interferes directly with the barrier that must be broken for that the effective diffusion procedure occurs in the sample. Zogzas et al. (1996) when studying the factors that influence the effective diffusivity in agricultural genres have described that the activation energy can vary between 12.7 and 110 kJ.mol⁻¹. Thus, the E_a found for calabura peel is within the range of acceptance, because values greater or less than found can be explained by the composition of the plant material.

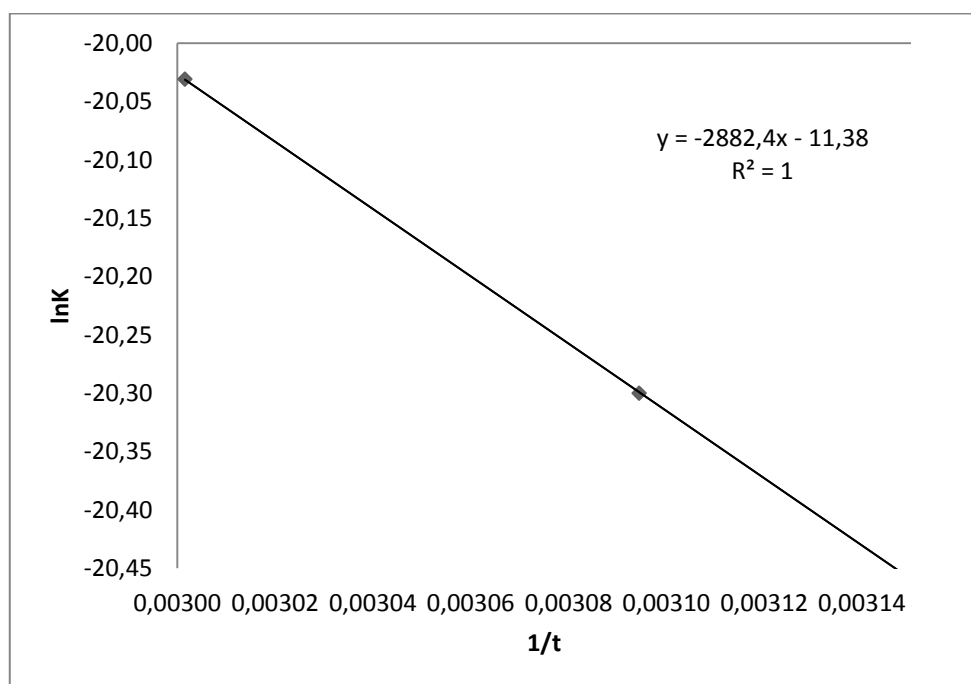


Figure 6. Parameters of Arrhenius ($\ln k$) x ($1/T$) for the effective diffusion coefficient, as a function of air temperature, during the drying of *Muntingia calabura* peel.

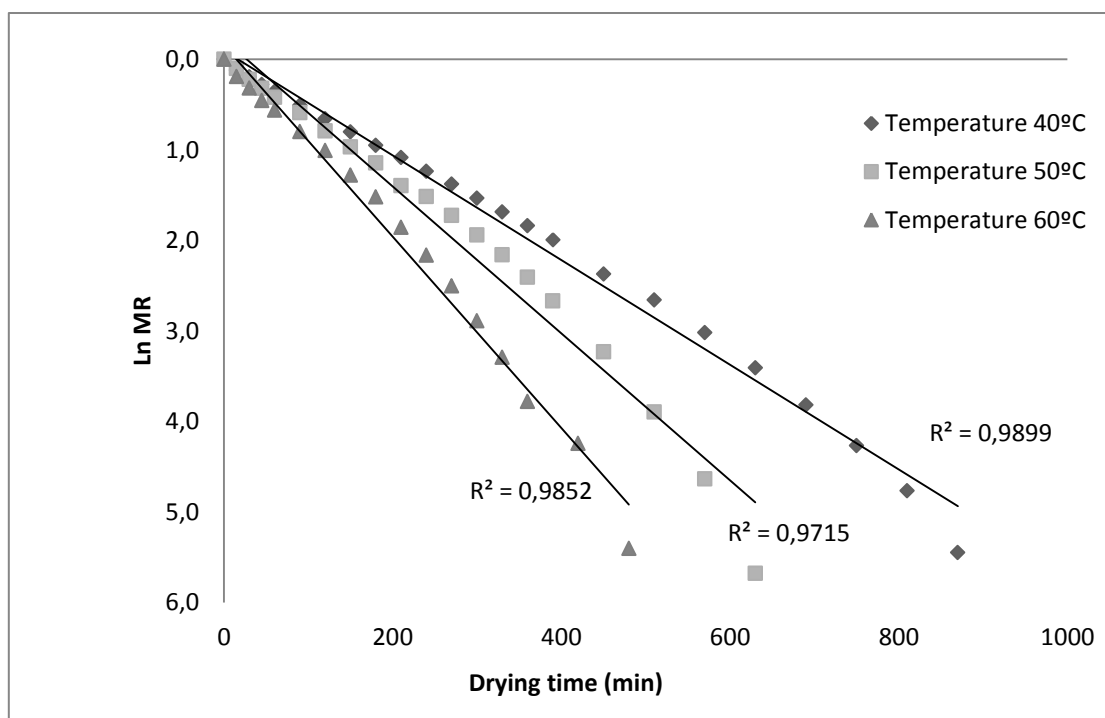


Figure 7. Logarithmic moisture (AR) ratio as a function of drying time during drying of *Muntingia calabura* peel.

When analyzing the values of the thermodynamic properties in Table 5, it can be seen that the specific enthalpy (ΔH) decreased as the temperature used in the drying kinetics increased (40, 50 and 60 °C), confirming that the higher the temperature used, the less energy will be spent during the drying process, thus confirming the reason why the time to reach RX at 60 °C is half that used at 40 °C. On the other hand, the specific entropy (ΔS) and the free energy of Gibbs had a reverse behavior to that of the enthalpy, with values increasing as temperatures increased. The low entropy change from -0.3399 to -0.3404 is related to the low variation of the temperatures used (10 °C), and the negative values are usually related to the changes in the structure of the material.

Table 4. Thermodynamic properties of *Muntingia calabura* peel: specific enthalpy (ΔH), specific entropy (ΔS), Gibbs free energy (ΔG) and effective diffusion (Def).

Temperatur a (K)	Propriedades termodinâmicas			
	ΔH (kJ mol ⁻¹)	ΔS (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔG (kJ mol ⁻¹)	Def(m ² s ⁻¹)
313,16	21,3607	-0,3399	127,4250	1,9164E-11
323,16	21,2775	-0,3402	131,1610	2,5447E-11
333,16	21,1944	-0,3404	134,8996	3,3302E-11

3.2. Effects of drying temperatures on total phenolic compounds (TPC) and antioxidant activity (ABTS and FRAP)

After the drying of the calabura peel by the forced convection process, the analysis of phenolic compounds content and antioxidant activity were carried out in order to evaluate if the increase of drying temperature has an impact on the bioactive compounds of calabura. Drying by freeze-drying in the peel of calabura was also carried out in order to compare with the others, considering that it is a milder method of dehydration. In order to obtain the best results was performed two methods extraction of bioactive compounds on the peels of calabura: ultrasonic and conventional. The dry samples in the drying kinetics were coded as follows: dry sample at 40 ° C = CS40, at 50 ° C = CS50 and at 60 ° C = CS60.

Quantification of phenolic compounds and antioxidant activity are presented in Table 5. Of the four samples analyzed (SC40, SC50, SC60 and lyophilized), the ones with the best bioactive compounds quantifications were the SC60 and Lyophilized samples, and the type of extraction used also influenced these results.

Among the dry samples by the forced convection drying process, when compared to conventional extraction, the phenolic content did not show significant difference between the CS40, CS50 and CS60 samples. However, in the extraction method performed with ultrasonic waves, the CS60 sample showed a significant difference in relation to sample SC40 and SC50. Chen; Zhao; Yu (2015) explains that higher temperatures end up favoring the extraction process, since it increases both the diffusion coefficient and the solubility of the sample, however, it must be taken into account until

the temperature range of the sample can be submitted, because very high end up denaturing the phenolic compounds.

Méndez-Lagunas et al. (2017) when studying drying effects on conventional extraction of bioactive compounds from strawberry residues, reported values ranging from 1230.1 to 848 mgEAG / 100g for dry samples at 50 and 60 °C. De Siqueira et al. (2013) to extract conventionally antioxidants from Brazilian cerrado fruits, reported for *Annonacrassiflora* Mart values of 580 ± 143 and 1095 ± 159 mgEAG / 100g in ethanoic and aqueous solvents, respectively, and 651 ± 61 and $1,015 \pm 62$ mgEAG / 100g for *Genipa americana* L., under conditions of extraction of 30°C and time of 60min. It is possible to observe that the results reported in the literature are similar to those found for calabura peel.

Regarding the type of extraction, only the sample CS50 did not present significant difference between the two methods employed. When comparing the dried samples by forced convection with the dried sample by lyophilization, it observes much higher values for the second method.

The interaction of two factors, such as temperature and ultrasonic use, in the extraction process, positively influenced the process, favoring the high extraction rates of total phenolic compounds, a result also found by Do Nascimento et al. (2016). According to Torkamani (2017) the ultrasonic waves facilitates the penetration of the solvents in the cellular matrix because it causes an amplification of the diffusion into the medium, besides allowing the use of milder temperatures in the extraction process, resulting in higher yields.

For the antioxidant activity, when analyzed the values of the methods used, FRAP and ABTS, in relation to the type of extraction (ultrasound or conventional) there was a significant difference among all the dry samples by forced convection. When comparing the drying kinetics samples with each other, the SC60 obtained the best results in comparison to the others, and when the drying methods were compared, there was, in large part, no significant difference between the SC60 and Lyophilized samples.

Chen; Zhao; Yu (2015), explains the higher the temperature, the higher the diffusion coefficient and the better the solubility of the sample. However, caution must be taken because very high temperatures will denature the phenolic compounds to be studied.

In general, with increasing drying temperature the phenolic compound and antioxidant activity indexes increased significantly, giving a positive impact to these rates.

Table 5. Effect of drying temperatures on phenolic compounds and antioxidant activity of *M. calabura* peels. Mean values for antioxidant activity ABTS (mgTrolox / 100g), FRAP (μ M ferrous sulphate / mg) and TPC (mg / 100g).

Extraction		Sample			
		CS40	CS50	CS60	Freeze-dried
Conventional	ABTS	22,56 \pm 2,07bB	29,94 \pm 1,99bB	34,9 \pm 0,94abB	45,31 \pm 1,5aA
	TPC	1102,83 \pm 87,37bB	1086,17 \pm 5,77bA	1092,83 \pm 81,29bB	1544,5 \pm 207,85aA
	FRAP	482,32 \pm 39,81cB	582,46 \pm 12,96cB	782,74 \pm 45,4bB	1159,96 \pm 6,68aA
Ultrasound	ABTS	48,61 \pm 1,1bA	48,51 \pm 9,6bA	62,71 \pm 10,22aA	51,43 \pm 4,39abA
	TPC	1322,83 \pm 135,31bcA	1246,17 \pm 60,48cA	1579,5 \pm 43,3aA	1531,17 \pm 87,8abA
	FRAP	587,81 \pm 27,53cA	739,96 \pm 65,74bA	888,22 \pm 33,71aA	857,6 \pm 95,34aB

Expressed results with mean \pm standard deviation (triplicate). ^{abcd} The values with lowercase letters on the same line are not significantly different (Tukey test, $p < 0.05$). ^{ABCD} Values with uppercase letters in the same column and of the same chemical analysis are not significantly different (Tukey test, $p < 0.05$).

4. Conclusion

The study showed that the drying of the calabura peel can be predicted using the mathematical models of thin layer common for drying of vegetal materials. Among all the ten models studied for the drying of the bark of calabura, at temperatures of 40, 50 and 60 °C, the logarithmic model was the one that best fit the data, and it can be used to represent the kinetics of drying for the peels. The activation energy obtained through the Arrhenius equation that establishes the dependence of the diffusivity in relation to the temperature, was a well acceptable and below the one found in the literature, proving that the peel has low resistance of diffusion. When studied the effect of temperatures on

the bioactive compounds of calabura peel, it was observed that the increase of 10 °C in the drying temperatures induced a gain in the phenolic compound and antioxidant activity rates, being the drying temperature at 60 °C used in this study the best favored for determination of the bioactive compounds. When compared to the drying methods, the results found for the lyophilized samples and dried samples at 60 °C were very close, and it can be concluded that the lyophilization method can be replaced by the convective drying at 60 °C, since it is an expensive method. In relation to conventional extraction and with ultrasonic waves, the second methodology employed presented higher phenolic compounds and antioxidant activity rates. The study may provide useful information for future work as it provides data on the drying behavior and thermodynamic properties of calabura peel, optimum temperature ranges for extraction of bioactive compounds and results of unconventional extraction methods.

5. References

- Amiruddin, Z., Hijaz, M., Sani, M., Abdul, A., Lay, T., & Zaki, M. (2016). Antinociceptive effect of semi-purified petroleum ether partition of *Muntingia calabura* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(4), 408–419. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.12.007>
- AOAC. (1990). AOAC: Official Methods of Analysis. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International*, (20 ed.).
- Aral, S., & Be?e, A. V. (2016). Convective drying of hawthorn fruit (*Crataegus* spp.): Effect of experimental parameters on drying kinetics, color, shrinkage, and rehydration capacity. *Food Chemistry*, 210, 577–584. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.128>
- Azeez, L., Adebisi, S. A., Oyedeji, A. O., Adetoro, R. O., & Tijani, K. O. (2017). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences Bioactive compounds ' contents , drying kinetics and mathematical modelling of tomato slices influenced by drying temperatures and time. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.03.002>
- Bandeira, G. N., Gomes, C. A., Barros, R., Muhammad, S., & Akhtar, Y. (2013). Insecticidal activity of *Muntingia calabura* extracts against larvae and pupae of

- diamondback , *Plutella xylostella* (Lepidoptera , Plutellidae). *Journal of King Saud University - Science*, 25(1), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2012.08.002>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Buhian, W. P. C., Rubio, R. O., & Martin-Puzon, J. J. (2017). Chromatographic fingerprinting and free-radical scavenging activity of ethanol extracts of *Muntingia calabura* L. leaves and stems. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(2), 139–143. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.11.016>
- Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, 172, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110>
- Chen, Q., Bi, J., Wu, X., Yi, J., Zhou, L., & Zhou, Y. (2015). LWT - Food Science and Technology Drying kinetics and quality attributes of jujube (*Zizyphus jujuba* Miller) slices dried by hot-air and short- and medium-wave infrared radiation. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 759–766. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.071>
- Corrêa, P. C., Oliveira, G. H. H., Botelho, F. M., Goneli, A. L. D., & Carvalho, F. M. (2010). Modelagem matemática e determinação das propriedades termodinâmicas do café (*Coffea arabica* L.) durante o processo de secagem. *Revista Ceres*, 57(5), 595–601. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000500005>
- Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion*. Clarendon Press. Retrieved from https://books.google.com.br/books/about/The_Mathematics_of_Diffusion.html?id=eHANhZwVouYC&redir_esc=y
- Darvishi, H., Asl, A. R., Ali Asghari, Azadbakht, M., Najafi, G., & Khodaei, J. (2014). Study of the drying kinetics of pepper. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13(2), 130–138. <https://doi.org/10.1016/J.JSSAS.2013.03.002>
- de Siqueira, E. M. A., Rosa, F. R., Fustinoni, A. M., de Sant’Ana, L. P., & Arruda, S. F. (2013). Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content

and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. *PLoS ONE*, 8(8), 2–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072826>

do Nascimento, E. M. G. C., Mulet, A., Ascheri, J. L. R., de Carvalho, C. W. P., & Cárceles, J. A. (2016). Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel. *Journal of Food Engineering*, 170, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015>

do Nascimento, E. M. G. C., Mulet, A., Ascheri, J. L. R., de Carvalho, C. W. P., & Cárceles, J. A. (2016). Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel. *Journal of Food Engineering*, 170, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015>

Do Nascimento, E. M. G. C., Mulet, A., Ascheri, J. L. R., De Carvalho, C. W. P., & Cárceles, J. A. (2015). Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel. *Journal of Food Engineering*, 170, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015>

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. *Food Chemistry*, 219, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122>

Fiorentin, L. D., Menon, B. T., Alves, J. A., Barros, S. T. D. de, Pereira, N. C., & Módenes, A. N. (2010). Determinação da cinética e das isotermas de secagem do bagaço da laranja. *Acta Scientiarum. Technology*, 32(2). <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v32i2.8242>

Fратиани, A., Niro, S., Messia, M. C., Cinquanta, L., Panfili, G., Albanese, D., & Di Matteo, M. (2017). Kinetics of carotenoids degradation and furosine formation in dried apricots (*Prunus armeniaca* L.). *Food Research International*, 99, 862–867. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.009>

Galaz, P., Valdenegro, M., Ramírez, C., Nuñez, H., Almonacid, S., & Simpson, R. (2017). Effect of drum drying temperature on drying kinetic and polyphenol contents in pomegranate peel. *Journal of Food Engineering*, 208, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.002>

- Garcia-Perez, J. V., Ortuño, C., Puig, A., Carcel, J. A., & Perez-Munuera, I. (2012). Enhancement of Water Transport and Microstructural Changes Induced by High-Intensity Ultrasound Application on Orange Peel Drying. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2256–2265. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0645-0>
- Gava, A. J. ;, & Silva, Carlos Alberto Bento da; Frias, J. R. G. (2009). *Tecnologia de alimentos, princípios e aplicações*. São Paulo: Nobel.
- Gomathi, R., Anusuya, N., & Manian, S. (2013). A dietary antioxidant supplementation of Jamaican cherries (*Muntingia calabura* L.) attenuates inflammatory related disorders. *Food Science and Biotechnology*, 22(3), 787–794. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0146-1>
- Hani, N. M., Torkamani, A. E., Zainul Abidin, S., Mahmood, W. A. K., & Juliano, P. (2017). The effects of ultrasound assisted extraction on antioxidative activity of polyphenolics obtained from *Momordica charantia* fruit using response surface approach. *Food Bioscience*, 17(November 2016), 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.11.002>
- Henríquez, C., Córdova, A., Almonacid, S., & Saavedra, J. (2014). Kinetic modeling of phenolic compound degradation during drum-drying of apple peel by-products. *Journal of Food Engineering*, 143, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.037>
- Jideani, V. A., & Mpotokwana, S. M. (2009). Modeling of water absorption of Botswana bambara varieties using Peleg ' s equation. *Journal of Food Engineering*, 92(2), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.10.040>
- Junqueira, D. J., Luiz, J., & Corr, G. (2017). LWT - Food Science and Technology Convective drying of cape gooseberry fruits : Effect of pretreatments on kinetics and quality parameters *Journal of Food Engineering*, 82, 404–410. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.072>
- Kaletka, A., & Górnicki, K. (2010). Evaluation of drying models of apple (var. McIntosh) dried in a convective dryer. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(5), 891–898. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02230.x>
- Kingsly, R. P., Goyal, R. K., Manikantan, M. R., & Ilyas, S. M. (2007). Effects of

- pretreatments and drying air temperature on drying behaviour of peach slice. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(1), 65–69. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01210.x>
- Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, 126(3), 972–981. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.104>
- Lalit R. Verma, L. R., R. A. Bucklin, R. A., J. B. Endan, J. B., & F. T. Wratten, F. T. (1985). Effects of Drying Air Parameters on Rice Drying Models. *Transactions of the ASAE*, 28(1), 296–301. <https://doi.org/10.13031/2013.32245>
- Lewis, W. K. (1921). The Rate of Drying of Solid Materials. *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*, 13(5), 427–432. <https://doi.org/10.1021/ie50137a021>
- Liana, N., Eddrina, N., Mohtarrudin, N., & Othman, F. (2017). Anticarcinogenic activity of *Muntingia calabura* leaves methanol extract against the azoxymethane-induced colon cancer in rats involved modulation of the colonic antioxidant system partly by flavonoids, 55(1), 2102–2109.
- Madamba, P. S., Driscoll, R. H., & Buckle, K. A. (1996). The thin-layer drying characteristics of garlic slices. *Journal of Food Engineering*, 29(1), 75–97. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(95\)00062-3](https://doi.org/10.1016/0260-8774(95)00062-3)
- Mahmood, N. D., Nasir, N. L. M., Rofiee, M. S., Tohid, S. F. M., Ching, S. M., Teh, L. K., ... Zakaria, Z. A. (2014). *Muntingia calabura* : A review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observations. *Pharmaceutical Biology*, 52(12), 1598–1623. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.908397>
- Méndez-Lagunas, L., Rodríguez-Ramírez, J., Cruz-Gracida, M., Sandoval-Torres, S., & Barriada-Bernal, G. (2017a). Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *Food Chemistry*, 230, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.010>
- Méndez-Lagunas, L., Rodríguez-Ramírez, J., Cruz-Gracida, M., Sandoval-Torres, S., & Barriada-Bernal, G. (2017b). Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *Food Chemistry*, 230, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.010>

- Mghazli, S., Ouhammou, M., Hidar, N., Lahnine, L., Idrimam, A., & Mahrouz, M. (2017). Drying characteristics and kinetics solar drying of Moroccan rosemary leaves. *Renewable Energy*, *108*, 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.02.022>
- Midilli, A., Kucuk, H., & Yapar, Z. (2002). A NEW MODEL FOR SINGLE-LAYER DRYING. *Drying Technology*, *20*(7), 1503–1513. <https://doi.org/10.1081/DRT-120005864>
- Morais, D. R., Rotta, E. M., Sargi, S. C., Schmidt, E. M., Bonafe, E. G., Eberlin, M. N., ... Visentainer, J. V. (2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.036>
- Onwude, D. I., Hashim, N., & Chen, G. (2016). Trends in Food Science & Technology Recent advances of novel thermal combined hot air drying of agricultural crops. *Trends in Food Science & Technology*, *57*, 132–145. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.012>
- PAGE, G. E. (1949). FACTORS INFLUENCING THE MAXIMUM RATES OF AIR DRYING SHELLLED CORN IN THIN LAYERS. *Theses and Dissertations Available from ProQuest*. Retrieved from <https://docs.lib.purdue.edu/dissertations/AAI1300089>
- Patrick, W., Buhian, C., Rubio, R. O., Lim, D., Jr, V., Janet, J., & Puzon, M. (2017). Perfis de metabolitos bioactivos e a actividade antimicrobiana de extractos etanólicos de *Muntingia calabura* L . folhas e caules, 1–7.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Roberts, J. S., Kidd, D. R., & Padilla-zakour, O. (2008). Drying kinetics of grape seeds, *89*, 460–465. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.05.030>
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. de, Morais, S. M. de, Sampaio, C. de G., Pérez-Jiménez, J., & Calixto, F. D. S. (2007). Metodologia Científica:

- Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento*, 23(2), 1–4. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- S. M. Henderson, S. M. (1974). Progress in Developing the Thin Layer Drying Equation. *Transactions of the ASAE*, 17(6), 1167–1168. <https://doi.org/10.13031/2013.37052>
- Silva, V., Figueiredo, A. R., Costa, J. J., & Guiné, R. P. F. (2014). Experimental and mathematical study of the discontinuous drying kinetics of pears. *Journal of Food Engineering*, 134, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.02.022>
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (50), 81–86. <https://doi.org/10.1021/jf010865b>
- Siqueira, E. M. de A., Rosa, F. R., Fustinoni, A. M., de Sant’Ana, L. P., & Arruda, S. F. (2013). Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. *PLoS ONE*, 8(8), e72826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072826>
- Su, B.-N., Jung Park, E., Vigo, J. S., Graham, J. G., Cabieses, F., Fong, H. H. S., ... Kinghorn, A. D. (2003). Activity-guided isolation of the chemical constituents of *Muntingia calabura* using a quinone reductase induction assay. *Phytochemistry*, 63(3), 335–341. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00112-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00112-2)
- T. L. Thompson, T. L., R. M. Peart and G. H. Foster, R. M., & Foster, G. H. (1968). Mathematical Simulation of Corn Drying — A New Model. *Transactions of the ASAE*, 11(4), 0582–0586. <https://doi.org/10.13031/2013.39473>
- Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q. A., & Sun, D. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 706–715. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.09.005>
- V. L. Singleton, J. A. R., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology*

and *Viticulture*, 16(3), 144–158. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144>

Vega-G?lvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Mart?nez-Monz?, J., Garc?a-Segovia, P., ... Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, 132(1), 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.029>

Y. I. Sharaf-Eldeen, Y. I., J. L. Blaisdell, J. L., & M. Y. Hamdy, M. Y. (1980). A Model for Ear Corn Drying. *Transactions of the ASAE*, 23(5), 1261–1265. <https://doi.org/10.13031/2013.34757>

Zielinska, M., & Michalska, A. (2016). Microwave-assisted drying of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits: Drying kinetics, polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, colour and texture. *Food Chemistry*, 212, 671–680. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.003>

Zogzas, N. P., Maroulis, Z. B., & Marinos-Kouris, D. (1996). Moisture Diffusivity Data Compilation in Foodstuffs. *Drying Technology*, 14(10), 2225–2253. <https://doi.org/10.1080/07373939608917205>

CAPITULO II; Extração assistida por ultrassom versus convencional e influência dos métodos de secagem sobre os compostos bioativos de casca de calabura (*Muntingia calabura*)

Luciana Alves da Silva-Tavone^{a*}, Kauyse Matos Nascimento^a, Rita de Cássia Bergamasco^a, Mônica Regina da Silva Scapim^a

^aDepartment of Food Engineering, State University of Maringá - UEM, Colombo Avenue, 5790, Maringá, Paraná – Brazil.

*Corresponding author: luciana.alvestavone@gmail.com, +55 (43) 99827-3420.

RESUMO

Neste estudo, foi investigado o efeito das temperaturas de secagem em diferentes parâmetros de extração sobre a atividade antioxidante e compostos fenólicos do resíduo. A extração foi realizada com as amostras das cascas secas utilizando solução aquosa e hidroalcoólica como solvente, e os ensaios experimentais foram realizados em diferentes tempos e temperaturas nas técnicas de extração convencional e assistida por ultrassom. O tempo e a temperatura de extração influenciaram nos valores encontrados para compostos bioativos, em sinergismo com o tipo de solvente, considerando que, o ultrassom permitiu obter extratos com valor elevado de conteúdo fenólico (TPC) total e capacidade antioxidante (ABTS e FRAP). A melhor extração se deu com tempo de 60 min e temperatura de 50 °C, utilizando o etanol 50% na extração ultrassônica.

Palavras-chave: compostos bioativos, liofilização, secagem convectiva

1. Introdução

A procura por fontes naturais de compostos antioxidantes cresceu exponencialmente, visto que o consumo destes auxilia na eliminação endógena de radicais livres que contribuem no aparecimento de doenças como câncer e envelhecimento precoce. Essa propriedade fármaco pode ser encontrada em frutas e vegetais, contudo, alimentos *in natura* podem ser de difícil acesso para alguns grupos de pessoas dependendo da sua localização geográfica. Com base nessa demanda, as indústrias alimentícias foram impulsionadas a desenvolver pesquisas relacionadas a novos métodos de processamento

destes alimentos, a fim de aumentar a conservação nutricional e extração de seus compostos bioativos.

A matéria-prima utilizada na extração de compostos fenólicos e antioxidantes deve ser previamente submetida à secagem, pois, a presença de altos teores de água no material pode diminuir o rendimento destes compostos [1]. A secagem é definida como um processo de redução de umidade de um produto, com um procedimento simultâneo de transferência de calor e massa entre produto e o ar quente de secagem [2].

Liofilização

Atualmente existem inúmeras técnicas para extrair antioxidantes de materiais vegetais, tais como as chamadas extrações verdes, que preservam os componentes funcionais do material estudado e utiliza baixas temperaturas, a extração por maceração, uso de fluido supercrítico, e as técnicas ultrassom, entre outros, são algumas delas [3]. Estudos sobre esses tipos de métodos tem permitido o desenvolvimento de técnicas mais eficientes e ambientalmente sustentáveis [4].

A extração assistida por ultrassom é relatada como uma técnica muito eficiente [5,6]. O método fundamenta-se na formação de ondas ultrassônicas de alta frequência que causam danos à membrana celular do material vegetal, devido a formação de bolhas (cavitação) ocasionadas pelos ciclos de expansão e contração da onda, esse efeito ocasionará maior rendimento na extração de compostos [7]. A eficiência do processo de extração por mecanismos de ultrassom está ligada a pelo menos a três meios, na qual há um melhoramento da transferência de massa, dentre elas, temos o rompimento da estrutura celular vegetal por meio de colapsos ocasionados por cavitação (formação de bolhas), estas por sua vez aumentam a permeabilidade do tecido fazendo com que haja a liberação do material intracelular; o aumento da temperatura e pressão, ocasionado pelas ondas ultrassônicas, na zona de implosão das bolhas, faz com que haja melhoramento da solubilidade e penetração de solventes, e por último, há maior difusão ocasionado pela microstreaming gerada pela ultrassom [8].

O rendimento na extração não depende apenas do método que foi empregado, mas também está relacionado com o tipo de solvente utilizado [9]. Para o procedimento liquido-sólido, se averigua antecipadamente as condições a serem utilizadas, pois o material vegetal sofrerá influência dos parâmetros empregados [10]. Os solventes orgânicos são tradicionalmente utilizados na extração de bioativos. No entanto, alguns solventes, como o metanol, são considerados tóxicos, desta forma, o mais habitual é o uso do etanol como solvente, por ser de cadeia mais simples e de grau alimentar [11].

A *Muntingia calabura* (calabura) é uma fruta única do gênero *Muntingia*, podendo ser encontrada na América Latina e Ásia, é rica em vitaminas, minerais, compostos bioativos e seu consumo é indicado, pois tem ampla propriedade fármaco [12,13]. As suas cascas e sementes apresentam maiores índices de capacidade de armazenamento de compostos antioxidantes quando comparadas com rendimento de outras partes da planta [14], já foi relatado pela literatura compostos como antocianinas, flavonoides e fenólicos como ácido gálico, miricetina, ácido ferulico, ácido vanílico, entre outros [15–17]. Estudos científicos sobre a calabura revelaram que cascas, flores, raízes e frutas da planta apresentam propriedades de efeito antinociceptivo [18], atividade anticarcinogênica [19], atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, antiproliferativas [15,20,21], atividade antidiabética [22], atividade quinona redutase [23] e inseticida [24].

O objetivo do estudo foi comparar a eficiência de extração utilizando ondas ultrassônicas com o convencional dos compostos bioativos de casca de calabura, além de fazer uma varredura do melhor método dentro de diferentes faixas de temperatura, tempo e solventes verdes, variando amostras secas pelo processo de liofilização e secagem convectiva.

2. Materiais e métodos

2.1. Reagentes

Reagente de Folin – Ciocalteu, carbonato de sódio, ácido gálico, 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (trolox), 2,4, 6-tris (2-piridil) - s -triazina (TPTZ), cloreto férrico, acetato de sódio, ácido acético, de cobre (II) e etanol.

2.2. Material vegetal

As calaburas foram adquiridas na Universidade Estadual de Maringá (UEM) (Maringá, Paraná- Brasil) durante o mês de novembro e dezembro de 2016. As frutas foram higienizadas e cortadas ao meio para a separação da casca e polpa. A amostras de casca de calabura apresentaram um teor de umidade de $3,00 \pm 0,495$ g de água /100g de matéria seca (decimal b.s.) acordo com o método AOAC método 934,06 [25] a 105 ± 1 °C por 24 h, em triplicata. As amostras de cascas foram separadas em quatro porções

iguais de 100g e congeladas a -18 ± 1 °C em embalagem de polietileno laminado a vácuo até posterior processamento.

2.3. Processo de secagem por convecção forçada e liofilização

Uma das porções de cascas de calabura congelada foi seca pelo método de liofilização com o auxílio de equipamento (Marca CHRIST - Modelo Alpha 1-2 LDplus) durante um período de 24h sob as condições de temperatura de -58 °C e vácuo de 0,040 mbar. As outras três porções foram secas, separadamente, pelo método de convecção forçada com velocidade do ar constante de 1 m/s utilizando equipamento Modelo SP/100, nas temperaturas 40 , 50 e 60 ± 2 °C durante os tempos de 990, 690 e 510 min, onde atingiram um teor de equilíbrio de $0,10 \pm 0,01$ (b.s.).

Para determinar o método de secagem, com efeito, menos gradativos sob os compostos bioativos das cascas de calabura foram preparadas quatro amostras.

As cascas secas por convecção forçada e por liofilização, separadamente, foram moídas em liquidificador industrial (Modelo JI Colombo, 700 Watts), para a obtenção de uma farinha e peneiradas em Tyler para selecionar tamanhos de partículas entre 0,100 a 0,200 mesh. As amostras foram identificadas conforme método de secagem (40 , 50 , 60 °C e liofilização), acondicionadas em sacos de polietileno laminado a vácuo, para diminuir perdas de compostos fotossensíveis, e armazenadas em freezer convencional a temperatura de 10 °C, para conservação das mesmas.

2.4. Extração assistida por ultrassom e convencional

A extração dos compostos bioativos das cascas de calabura foi realizada pelo método do banho ultrassônico em contato indireto (Modelo USC – 1400) com frequência ultrassônica de 40 kHz e potência ultrassônica de 135 Watts RMS. Para comparar a capacidade extratora do método ultrassônico, foi utilizado o método de maceração (convencional), onde a extração foi realizada no mesmo equipamento de banho ultrassônico, porém com a máquina desligada. As condições de extração (tempo, temperatura e solvente) para ambas as metodologias foram idênticas para fins de comparação.

Os extratos foram obtidos com modificações do método de [26]. As amostras de cascas, em proporção de 1:25 de mg/mL (casca/solvente), quantidades definidas em ensaios preliminares, com um volume total de 100 mL, foram colocadas em erlenmeyer

e homogeneizadas por 5min em um homogeneizador (Modelo 752A – Fisatom) em temperatura de 25°C. Simultaneamente, os erlenmeyer foram acoplados no equipamento ultrassônico e iniciou a aplicação do método de extração desejado, extração assistida por ultrassom ou convencional.

As condições experimentais e as suas gamas são apresentados na Tabela 8 e foram fundamentados na literatura [7,27,28] e ensaios preliminares.

Sendo as variáveis independentes: o solvente para a extração, tempo de extração e temperatura de extração. O objetivo da realização deste desenho experimental foi estudar condição de extração de compostos bioativos mais satisfatório e a condição que melhor extrai.

Tabela 3. Desenho experimental das extrações assistida por ultrassom e convencional.

Tratamento	Solução	Condições Experimentais		Variáveis normalizadas		
		Tempo (min)	Temperatura (°C)	X1	X2	X3
E1	aquosa	30	30	-1	-1	-1
E2	aquosa	60	30	-1	1	-1
E3	aquosa	30	50	-1	-1	1
E4	aquosa	60	50	-1	1	1
E5	Etanol: Água (5;5)	30	30	1	-1	-1
E6	Etanol: Água (5;5)	60	30	1	1	-1
E7	Etanol: Água (5;5)	30	50	1	-1	1
E8	Etanol: Água (5;5)	60	50	1	1	1

Os extratos obtidos foram centrifugadas a 3500 rpm em temperatura de 25°C durante 10 min (Centrifuga Laboratorial marca DAIKI - Modelo 80-2B DM) e o sobrenadante filtrado em papel filtro. As extrações foram feitas em triplicata, com ausência de luz. Os extratos obtidos foram submetidos à análise na sequencia.

2.5. Determinação de compostos fenólicos e capacidade antioxidante

O teor de compostos fenólicos totais (TPC) foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau (FC), conforme Singleton & Rossi [29]. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro utilizando comprimento de

onda de 725 nanômetros (nm). A quantificação de fenóis totais nos extratos, em triplicata, foram expressos em mg Ácido Gálico/100g de amostra, utilizando a curva padrão de ácido gálico.

Como nenhuma método único é capaz de avaliar totalmente a capacidade antioxidante de uma amostra, foram utilizados os métodos espectrofotômetros ABTS e FRAP, ambos utilizando uma diluição de 1:25 (v/v).

O ensaio com o radical ABTS foi realizado conforme Re et al. [30] e Rufino et al [31]. Os valores das absorvâncias em triplicata foram calculadas a partir da curva padrão de Trolox (2 mmol L⁻¹ ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico em álcool etílico), sendo os resultados expressos em µM Trolox/g de amostra.

O método FRAP foi determinado de acordo com Benzie & Strain [32]. O potencial antioxidante dos extratos em triplicata foi determinado com base na curva de calibração, traçada usando Sulfato Ferroso (FeSO₄) (2 mmol L⁻¹), e expressa em µM FeSO₄/ mg de amostra.

3. Análise Estatística

Os dados experimentais foram registrados com $media \pm desvio$ padrão sendo feita três repetições para cada amostra. Os resultados foram analisados pelo método de análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%, empregando o software Statistica 8.0.

4. Resultados e Discussão

Para obter uma matéria prima com maior qualidade e de fácil armazenamento, muitas das vezes, se recorre à métodos de secagem antes de iniciar a extração de antioxidantes, o pré-tratamento acaba por evitar a interferência da água no processo de extração e aumentar o rendimento quantitativo de compostos [33].

As Tabelas 9, 10 e 11 apresentam os valores das extrações realizadas pelo método convencional (maceração) e assistida por ultrassom, variando os parâmetros tempo, temperatura, solução para as quatro amostras adquiridas pelos métodos de secagem convectiva forçada e liofilização. A quantificação de compostos bioativos se deu com análises quantitativas de compostos fenólicos totais (TPC) (mg EAG/ 100 g de casca seca), e da atividade antioxidante pelos métodos ABTS e FRAP.

Tabela 4. Atividade antioxidante (ABTS) da casca de *Muntingia calabura* em diferentes condições de tempo, temperatura, solução e extração.

		ABTS (mgTROLOX/100g)			
		Drying air temperature			
Tratamento	Extractor	40°C	50°C	60°C	Liofilizada
E1	Convencional	9,18±1,41Dbβ	14,32±4,22Ebβ	16,49±1,51Fabβ	26,82±3,38Eaβ
	Ultrassom	32,16±6,96DEba	41,82±15,02CDaba	48,38±6,29DEaα	42,77±0,58Caba
E2	Convencional	17,14±1,70CDcβ	29,58±2,34Dbα	39,50±5,62Eabβ	45,19±7,01Daα
	Ultrassom	29,71±3,35DEca	37,78±3,21DEbca	54,78±0,24CDaα	44,43±6,32Caba
E3	Convencional	37,78±5,89Bcβ	51,48±7,02Cbα	75,78±9,15Baα	78,68±6,37Baα
	Ultrassom	56,28±3,76BCca	60,08±11,87Bbca	72,68±5,44Baba	77,38±5,15Baα
E4	Convencional	67,28±0,92Aaα	68,88±4,48Baα	70,78±5,40BCaα	70,58±2,11BCaβ
	Ultrassom	58,48±3,21Bba	62,58±6,92Bba	78,18±5,79Baα	80,28±7,37Baα
E5	Convencional	29,52±1,29BCca	49,74±6,43Cbα	57,91±2,06CDaba	62,97±4,42Caα
	Ultrassom	19,36±0,69Ecβ	25,30±2,33Ebcβ	35,97±1,09Ebβ	51,13±4,94Caβ
E6	Convencional	31,63±1,46Bbβ	32,25±1,46Dbβ	39,26±2,92Ebβ	82,32±5,73Baα
	Ultrassom	44,19±1,67BCDbα	54,47±2,29BCbα	68,08±5,66BCaα	70,72±9,68Baβ
E7	Convencional	37,84±4,39Bca	41,74±2,04CDbca	51,94±6,09DEabβ	60,04±7,60Caβ
	Ultrassom	40,84±4,69CDba	42,74±4,45CDbα	64,54±2,00BCaα	70,94±6,15Baα
E8	Convencional	75,44±5,44Aca	91,74±8,06Aba	97,34±4,10Abβ	121,94±11,76Aaα
	Ultrassom	83,94±4,20Aba	86,84±4,50Aba	113,64±3,83Aaα	115,74±12,98Aaα

Resultados expressos com média±desvio padrão (triplicata). ^{abcd} Os valores com as mesmas letras minúsculas na mesma linha não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$). ^{ABCD} Os valores com as mesmas letras maiúsculas na mesma coluna não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$). $\alpha\beta$ médias com as mesmas letras gregas dentro mesma análise química não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 5. Capacidade de redução de ferro (FRAP) da casca de *Muntingia calabura* em diferentes condições de tempo, temperatura, solução e extração.

		FRAP (μM sulfato ferroso/100g)			
		Drying air temperature			
Tratamento	Extractor	40°C	50°C	60°C	Liofilizada
E1	Convencional	306,73±34,07Db β	344,51±4,87Eb β	920,12±89,50Ca α	1020,12±35,24Ea α
	Ultrassom	685,34±54,29Da α	663,12±39,71CDa α	493,12±10,32Eb β	746,12±41,71Ea β
E2	Convencional	385,34±8,71Dc β	499,58±10,50Dc β	842,28±51,30CDb β	1021,80±58,23Ea α
	Ultrassom	654,78±43,77Dca	700,62±29,77Cca	1109,99±60,87Ca α	949,23±56,23Db α
E3	Convencional	570,62±13,88Cd β	854,62±12,38Cc β	1424,62±53,20Aba α	1589,12±96,05Aa α
	Ultrassom	1044,12±27,78Aba	977,62±21,45Bba α	1467,62±60,54Aa α	1424,62±53,20Ba β
E4	Convencional	822,62±46,77Bba α	924,24±5,14BCba α	1251,62±38,14Ba β	1219,12±45,93CDa α
	Ultrassom	878,12±73,46BCca	880,62±22,23Bca α	1308,62±30,25Ba α	1197,12±10,32Cb α
E5	Convencional	550,85±65,58Cca	553,97±14,97Dca	840,96±24,00DCba α	1143,12±42,48DEa α
	Ultrassom	512,79±13,17Eca	583,90±4,64Dca	896,40±21,18Db α	1170,29±28,82Ca α
E6	Convencional	548,76±31,51Cc β	613,87±40,77Dc β	736,96±22,51Db β	1321,68±89,85BCa α

	Ultrassom	790,78±18,93Cca	980,83±32,17Bba	1405,96±18,13ABaα	752,23±39,02Ecβ
E7	Convencional	948,46±12,71ABca	1048,46±54,47ABbc α	1149,46±33,73Bbβ	1436,46±110,11Baβ
	Ultrassom	939,96±34,56Bca	940,46±10,69Bcβ	1405,96±40,64ABba	1537,46±63,53Aaα
E8	Convencional	1060,96±43,42Aba	1173,14±13,38Aba	1492,46±79,12Aaα	1608,97±20,58Aaα
	Ultrassom	1108,96±5,76Aba	1169,96±55,64Aba	1498,96±49,34Aaα	1519,96±29,11ABaβ

Resultados expressos com média±desvio padrão (triplicata). ^{abcd} Os valores com letras minúsculas na mesma linha não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$). ^{ABCD} Os valores com letras maiúsculas na mesma coluna e do mesmo método de extração não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$). αβ médias com as mesmas letras gregas dentro mesma análise química não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 6. Compostos fenólicos totais (TPC) da casca de *Muntingia calabura* em diferentes condições de tempo, temperatura, solução e extração.

		Compostos Fenólicos (mg EAG /100g)			
		Drying air temperature			
Tratamento	Extractor	40°C	50°C	60°C	Liofilizada
E1	Convencional	1033,00±45,83Aaα	1034,67±37,53Baα	1070,83±19,47Caα	1073,00±49,24DEaα
	Ultrassom	646,33±40,72Dbβ	696,33±37,86Dbβ	821,33±20,82Eaβ	863,00±25,98Daβ
E2	Convencional	866,33±25,66Cca	954,67±14,43BCca	1189,67±40,72Baβ	1068,00±83,22DEbβ
	Ultrassom	918,00±15,00Cba	709,67±50,33Dcβ	1289,67±54,85BCaα	1214,67±5,77Baα
E3	Convencional	653,00±52,92Dbβ	703,00±36,06Dbβ	1116,33±52,52BCaα	1138,00±40,93Daβ
	Ultrassom	974,67±14,43BCca	901,33±23,63Cca	1078,00±42,72Dbα	1308,00±22,91ABaα

E4	Convencional	899,67±45,37BCbβ	931,33±46,46BCbβ	1098,00±42,72BCaβ	1103,00±50,74DEaβ
	Ultrassom	1034,67±25,17ABc α	1064,67±27,54Bca	1431,33±68,98Aaa	1338,00±50,74Aba
E5	Convencional	571,33±56,86Dcβ	593,00±15,00Dcβ	763,00±44,44Db	993,00±90,42Eaα
	Ultrassom	724,67±23,09Dca	731,33±30,55Dca	834,67±22,55Eba	978,00±25,98Caα
E6	Convencional	984,67±10,41ABca	849,67±45,37Cdβ	1099,67±32,15BCbβ	1564,67±43,68Aaa
	Ultrassom	958,00±17,32BCda	1086,33±71,12Bca	1386,33±56,86ABaa	1236,33±14,43ABb β
E7	Convencional	898,00±37,75BCca	868,00±10,00Ccβ	1116,33±35,47BCbβ	1326,33±45,37Caα
	Ultrassom	959,67±23,63Cba	958,00±17,32Cba	1238,00±73,99Caα	1228,00±15,00Baβ
E8	Convencional	1064,67±12,58Aca	1201,33±55,08Aba	1404,67±57,52Aaa	1444,67±23,63Baa
	Ultrassom	1118,00±20,00Aca	1211,33±42,52Aba	1453,00±92,60Aaa	1256,33±25,66ABb β

Resultados expressos com média±desvio padrão (triplicata). abcd médias com as mesmas letras minúsculas na linha não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$). ABCDE médias com as mesmas letras maiúsculas na coluna e dentro do mesmo tipo de extração não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$). αβ médias com a mesma análise química não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Das quatro amostras analisadas (40, 50, 60 °C e liofilizada), as que apresentaram melhores quantificações foram as duas últimas (60 °C e liofilizada) para todas as análises químicas (TPC, ABTS e FRAP). Sendo que, as extrações 4 e 8 apresentaram valores mais expressivos para as amostras citadas.

O método do ABTS é calculado através da redução de radicais presentes na amostra. O cálculo para ambas as extrações foi realizado utilizando a equação da reta expressa obtidas pela absorvância equivalente a 1000 μM Trolox, onde temos $y = -0,0003x + 0,6504$ ($R^2 = 0,9938$) para solução aquosa e $y = -0,0003x + 0,6658$ ($R^2 = 0,9958$) para etanol 50%, sendo utilizado o Trolox, um antioxidante semelhante a vitamina E para se obter resultados satisfatórios na análise.

Na extração assistida por ultrassom, para ABTS, os valores variaram entre 19,36±0,69 e 115,74±12,98 mg Trolox /100g, ambas em solução hidroalcoólica. Já para a extração convencional, o menor resultado foi de 9,27±1,41 mg Trolox /100g em solução aquosa e o maior 121,94±11,76 para a extração em etanol.

González-Centeno, M.R. et al. [4] ao utilizarem temperatura de 20°C e tempo de 60 minutos para extração de antioxidantes de casca de maracujá, relataram valores de $278,7 \pm 39,6$ e $180,3 \pm 29,4$ mg Trolox /100g para ABTS. Pertuzatti et al. ao estudarem variedades de mirtilo, encontraram valores de concentração entre 40,30 a 260,80 μmol Trolox/g. Sendo que, os maiores valores para ABTS de casca de calabura foram $115,74 \pm 12,98$ mg Trolox/100g). Ao comparar os dados obtidos com os da literatura, pode-se dizer que, a concentração de antioxidantes varia de acordo com as características do material vegetal e o tratamento de extração utilizado.

A capacidade de redução de ferro (FRAP) das cascas de calabura, foram expressas em μM sulfato ferroso/mg. A variação entre $306,73 \pm 34$, para o T1, amostra seca a 40 °C e extração convencional, e, $1608,97 \pm 20,58$ para T8, amostra liofilizada em extração convencional. Vale ressaltar que, mesmo com os maiores valores para a extração convencional para o T8, os métodos de extração convencional e assistida por ultrassom, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$).

Comparando a eficiência dos solventes água e etanol, para o método de extração com ultrassom, houve diferença significativa pelo teste Tukey ($p < 0,05$) nos ensaios: E1 e E5 / E2 e E6 / E4 e E8, para as quatro amostras, sendo que, para os tratamentos E3 e E7, houve diferença somente nas amostras de 40 e liofilizada. Para a análise de extração convencional os solventes apresentaram diferença significativa pelo teste Tukey ($p < 0,05$) em todos os ensaios.

Ao estudar as cascas e sementes de cultivares de uva utilizadas em vinícolas, Rockenbach et al. analisaram que os resultados variaram para casca entre 1454 e 3474 μmol Sulfato Ferroso/100g de amostra e para semente seca 2942 e 21492 μmol Sulfato Ferroso/100g, a extração foi realizada com metanol : água : ácido acético na proporção de (80:20:5) por tempo de 60min pelo método ultrassônico. Os resultados das extrações do trabalho são semelhantes aos determinados pela literatura, $1608,97 \pm 20,58$ μM Sulfato ferroso /100 g).

De acordo com González-Centeno, M.R. et al. [4] as condições ótimas para extração de antioxidantes de bagaço de uva foi de 40 kHz, 150W e tempo de 25min (equipamento UP400S, Hielscher Ultrassom Tecnologia, Alemanha) encontrando valores máximos de 32,31 mg EA / 100g. A diferença de resultados do trabalho com a literatura provavelmente seja por influência do tipo de material vegetal utilizado, fatores como ambiente, solo, e época de colheita da fruta, ou método de estocagem.

A quantificação de Compostos Fenólicos Totais (TPC) da casca de calabura com extração convencional variou de $571,33 \pm 56,86$ à $1444,67 \pm 23,63$ mg EAG/ 100 g de casca seca, para os tratamentos E5 e E8, respectivamente. Já a extração assistida por ultrassom teve uma variação superior, entre $646,33 \pm 40$ e $1564,67 \pm 43,68$ mg EAG/ 100 g de casca seca para os tratamentos E1 e E5, respectivamente. Sendo a casca tratada por liofilização com extração em solução hidroalcoólica em temperatura de 30°C e tempo de 60min com as maiores taxas de TPC ($p < 0,05$). Observou que a condição de extração 1, foi a única que não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) entre as amostras para a extração convencional. Quando analisado os tratamentos individualmente, entre todas as amostras, a condição de extração T5, foi a que apresentou os valores mais inferiores, podendo levar em consideração, que o binômio tempo/temperatura menores influenciou nesse resultado.

Méndez-Lagunas et al. [34] ao estudar efeitos da secagem na extração convencional de bioativos, encontraram níveis comparáveis de TPC em morangos, com valores que variaram de 1230,1 e 848 mg EAG / 100g para amostras secas a 50 e 60°C .

Ao extrair convencionalmente antioxidantes de frutas do cerrado brasileiro, De Siqueira et al. [35] relataram para *Annona crassiflora* Mart valores de 580 ± 143 e 1095 ± 159 mg EAG / 100g em solventes etanoico e aquoso, respectivamente, e, 651 ± 61 e $1,015 \pm 62$ mg EAG / 100g para *Genipa americana* L., sob condições de extração de 30°C e tempo de 60min.

Ahmad-Qasem et al. [36] avaliaram os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de extratos adquiridos a partir de azeitonas, empregando como pré-preparo das amostras três métodos de secagens, duas envolvendo o método de ar quente, com temperaturas de 70 e 120°C , e a terceira a secagem por liofilização. Após as análises, encontraram valores bem satisfatórios para as altas temperaturas empregadas. Eles atribuíram o fato a que temperaturas superiores acabam por aumentar a velocidade de secagem e conseqüentemente reduz o tempo de exposição da amostra ao ambiente, além de inativar enzimas oxidativas que podem agir no processo de extração.

Pinelo et al. [37] ao estudarem a extração de compostos bioativos da casca de maçã relataram que a temperatura de extração desempenhou um papel crítico na eficiente de obtenção compostos fenólicos, sendo 50°C a temperatura com melhor ajuste. Já Li et al. [11] ao extraírem compostos fenólicos de cascas de frutas cítricas, descrevem que melhor extração ótima foi em temperatura de 80°C com a utilização de etanol como solvente.

A eficiência da extração com uso de ultrassom é afetada por vários fatores internos e externos, tais como o tamanho da partícula da amostra, a temperatura e o tempo, intensidade de onda do equipamento [38].

Segundo a literatura a interação dois fatores, como temperatura e uso de ultrassom, no processo de extração, influencia positivamente no processo, obtendo assim melhores resultados na obtenção de compostos bioativos [39]. Para González-Montelongo et al. [10] o efeito do tempo na extração de antioxidante pode ser considerado como menos importante quando comparado com os outros parâmetros, contudo, o uso sinérgico desses alavanca as taxas de extração.

Chen; Zhao; Yu [40] explica que temperaturas mais elevadas podem favorecer o processo de extração, pois aumenta tanto o coeficiente de difusão quanto a solubilidade da amostra, porém, deve-se tomar cuidados, pois temperaturas muito elevadas acabam por desnaturar os compostos fenólicos a serem estudados.

As condições utilizadas no tratamento E8 foi a que apresentou os melhores resultados para as análises de TPC, FRAP e ABTS, ou seja, solução aquosa de etanol a 50%, tempo de extração de 60min e temperatura mais elevada 50 °C. Resultados semelhantes foram encontrados por Gonzalez-Centeno et al. (2015), onde a extração aumentou depois de 60min de extração com temperatura de 50 °C com ultrassom. Segundo esses autores, o TPC dos extratos obtidos com ultrassom foi 3,3 vezes maior ($770,9 \pm 77,5$ mg GAE / 100 g) do que com extração realizada convencionalmente a temperatura de 20°C, já para a atividade antioxidante, ABTS e FRAP, os resultados foram de 2,5 vezes ($705,9 \pm 41,7$ mg Trolox/ 100g) e 4,0 vezes maiores ($722,4 \pm 41,0$ mg Trolox/ 100g), respectivamente.

5. Conclusão

O estudo revelou que há diferença significativa em relação aos tipos de solventes utilizados para os métodos de extração, sendo que, o solvente etanol 50% apresentou as melhores condições para extração de compostos fenólicos e antioxidantes. Observou-se que, o tempo e a temperatura de extração influenciaram nos valores encontrados para compostos bioativos, considerando que, o ultrassom permitiu obter extratos com valor elevado de conteúdo fenólico (TPC) total e capacidade antioxidante (ABTS e FRAP). A melhor extração se deu com as condições utilizadas no tratamento E8, com tempo de 60 minutos e temperatura de 50 °C, utilizando o etanol 50% como solvente.

6. Referências bibliográficas

- [1] J.V. Garcia-Perez, C. Ortuño, A. Puig, J.A. Carcel, I. Perez-Munuera, Enhancement of Water Transport and Microstructural Changes Induced by High-Intensity Ultrasound Application on Orange Peel Drying, *Food Bioprocess Technol.* 5 (2012) 2256–2265. doi:10.1007/s11947-011-0645-0.
- [2] N. Hashim, O. Daniel, E. Rahaman, A Preliminary Study: Kinetic Model of Drying Process of Pumpkins (*Cucurbita Moschata*) in a Convective Hot Air Dryer, *Agric. Agric. Sci. Procedia.* 2 (2014) 345–352. doi:10.1016/j.aaspro.2014.11.048.
- [3] C.A. Romero J., B.D. Yépez V., Ultrasound as pretreatment to convective drying of Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth), *Ultrason. Sonochem.* (2015). doi:10.1016/j.ultsonch.2014.06.011.
- [4] M.R. González-Centeno, F. Comas-Serra, A. Femenia, C. Rosselló, S. Simal, Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling, *Ultrason. Sonochem.* 22 (2015) 506–514. doi:10.1016/j.ultsonch.2014.05.027.
- [5] M. Bonfigli, E. Godoy, M.A. Reinheimer, N.J. Scenna, Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling, *J. Food Eng.* 207 (2017) 56–72. doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.03.011.
- [6] M. Kazemi, R. Karim, H. Mirhosseini, A. Abdul Hamid, Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids, *Food Chem.* 206 (2016) 156–166. doi:10.1016/j.foodchem.2016.03.017.
- [7] E. Espada-Bellido, M. Ferreiro-González, C. Carrera, M. Palma, C.G. Barroso, G.F. Barbero, Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp, *Food Chem.* 219 (2017) 23–32. doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.122.

- [8] T.J. Mason, F. Chemat, M. Vinatoru, The Extraction of Natural Products using Ultrasound or Microwaves, *Curr. Org. Chem.* 15 (2011) 237–247. <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/coc/2011/00000015/00000002/art00007?crawler=true> (accessed September 3, 2017).
- [9] Q.D. Do, A.E. Angkawijaya, P.L. Tran-Nguyen, L.H. Huynh, F.E. Soetaredjo, S. Ismadji, Y.-H. Ju, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, *J. Food Drug Anal.* 22 (2014) 296–302. doi:10.1016/J.JFDA.2013.11.001.
- [10] R. González-Montelongo, M.G. Lobo, M. González, The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidant capacity of methanolic banana peel extracts, *Sep. Purif. Technol.* 71 (2010) 347–355. doi:10.1016/j.seppur.2009.12.022.
- [11] B.B. Li, B. Smith, M.M. Hossain, Extraction of phenolics from citrus peels, *Sep. Purif. Technol.* 48 (2006) 182–188. doi:10.1016/j.seppur.2005.07.005.
- [12] N.D. Mahmood, N.L.M. Nasir, M.S. Ro, S.F.M. Tohid, S.M. Ching, L.K. Teh, *Muntingia calabura*: Uma revisão das suas utilizações tradicionais , as propriedades químicas e farmacológicas observações, 5 (2018) 1–47.
- [13] T. Balan, M. Mohd, H. Sani, V. Suppaiah, N. Mohtarrudin, Z. Suhaili, Z. Ahmad, *Atividade anti-úlceras de calabura Muntingia folhas envolve a modulação de óxido nítrico endógeno e compostos de sulfidrilo não proteicos*, (2018) 1–22.
- [14] D.R. Morais, E.M. Rotta, S.C. Sargi, E.M. Schmidt, E.G. Bonafe, M.N. Eberlin, A.C.H.F. Sawaya, J. V. Visentainer, Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels, *Food Res. Int.* (2015). doi:10.1016/j.foodres.2015.08.036.
- [15] E.M. Rotta, C. Windson, I. Haminiuk, L. Maldaner, Original article Determination of antioxidant activity and phenolic compounds of *Muntingia calabura* Linn . peel by HPLC-DAD and UPLC-ESI-MS / MS, (2017) 954–963. doi:10.1111/ijfs.13359.
- [16] A.S. Sufian, K. Ramasamy, N. Ahmat, Z.A. Zakaria, M.I.M. Yusof, Isolation and identification of antibacterial and cytotoxic compounds from the leaves of

- Muntingia calabura L., J. Ethnopharmacol. 146 (2013) 198–204. doi:10.1016/j.jep.2012.12.032.
- [17] W. Patrick, C. Buhian, R.O. Rubio, D. Lim, V. Jr, J. Janet, M. Puzon, Perfis de metabolitos bioactivos e a actividade antimicrobiana de extractos etanólicos de Muntingia calabura L . folhas e caules, (2017) 1–7.
- [18] Z. Amiruddin, M. Hijaz, M. Sani, A. Abdul, T. Lay, M. Zaki, Antinociceptive effect of semi-purified petroleum ether partition of Muntingia calabura leaves, Rev. Bras. Farmacogn. 26 (2016) 408–419. doi:10.1016/j.bjp.2015.12.007.
- [19] N. Liana, N. Eddrina, N. Mohtarrudin, F. Othman, Anticarcinogenic activity of Muntingia calabura leaves methanol extract against the azoxymethane-induced colon cancer in rats involved modulation of the colonic antioxidant system partly by flavonoids, 55 (2017) 2102–2109.
- [20] T. Balan, M.H.M. Sani, S.H. Mumtaz Ahmad, V. Suppaiah, N. Mohtarrudin, Z.A. Zakaria, Antioxidant and anti-inflammatory activities contribute to the prophylactic effect of semi-purified fractions obtained from the crude methanol extract of Muntingia calabura leaves against gastric ulceration in rats, J. Ethnopharmacol. 164 (2015) 1–15. doi:10.1016/j.jep.2014.12.017.
- [21] Z.A. Zakaria, A.M. Mohamed, M.K. Hussain, M.R. Sulaiman, L.K. Teh, M.Z. Salleh, H. Science, U.I. Selangor, In Vitro Antiproliferative and Antioxidant Activities of the Extracts of Muntingia calabura Leaves, 39 (2011) 183–200. doi:10.1142/S0192415X11008749.
- [22] G. Chaitanya, B.R. Kumar, G.K. Mohan, A. Pradesh, Sridhar et al ., 632 (2011) 626–632.
- [23] B. Su, E. Jung, J. Schunke, J.G. Graham, F. Cabieses, H.H.S. Fong, J.M. Pezzuto, A.D. Kinghorn, Activity-guided isolation of the chemical constituents of Muntingia calabura using a quinone reductase induction assay, 63 (2003) 335–341. doi:10.1016/S0031-9422(03)00112-2.
- [24] G.N. Bandeira, C.A. Gomes, R. Barros, S. Muhammad, Y. Akhtar, Insecticidal activity of Muntingia calabura extracts against larvae and pupae of diamondback , Plutella xylostella (Lepidoptera , Plutellidae), J. King Saud Univ. - Sci. 25

- (2013) 83–89. doi:10.1016/j.jksus.2012.08.002.
- [25] AOAC, AOAC: Official Methods of Analysis, Off. Methods Anal. Assoc. Off. Anal. Chem. Int. (1990).
- [26] R.P. Singh, K.N. Chidambara Murthy, G.K. Jayaprakasha, Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models, *J. Agric. Food Chem.* (2002) 81–86. doi:10.1021/jf010865b.
- [27] N.M. Hani, A.E. Torkamani, S. Zainul Abidin, W.A.K. Mahmood, P. Juliano, The effects of ultrasound assisted extraction on antioxidative activity of polyphenolics obtained from *Momordica charantia* fruit using response surface approach, *Food Biosci.* 17 (2017) 7–16. doi:10.1016/j.fbio.2016.11.002.
- [28] Y. Tao, Z. Zhang, D.W. Sun, Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature, *Ultrason. Sonochem.* 21 (2014) 1461–1469. doi:10.1016/j.ultsonch.2014.01.029.
- [29] J.A.R. V. L. Singleton, J.A. Rossi, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *Am. J. Enol. Vitic.* 16 (1965) 144–158. <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144> (accessed December 30, 2017).
- [30] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 26 (1999) 1231–1237. doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
- [31] M. do S.M. Rufino, R.E. Alves, E.S. de Brito, S.M. de Moraes, C. de G. Sampaio, J. Pérez-Jiménez, F.D.S. Calixto, Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH., *Ministério Da Agric. Pecuária E Abast.* 23 (2007) 1–4. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
- [32] I.F.F. Benzie, J.J. Strain, The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay, *Anal. Biochem.* 239 (1996)

- 70–76. doi:10.1006/ABIO.1996.0292.
- [33] J.V. Garcia-Perez, C. Ortuño, A. Puig, J.A. Carcel, I. Perez-Munuera, Enhancement of Water Transport and Microstructural Changes Induced by High-Intensity Ultrasound Application on Orange Peel Drying, *Food Bioprocess Technol.* 5 (2012) 2256–2265. doi:10.1007/s11947-011-0645-0.
- [34] L. Méndez-Lagunas, J. Rodríguez-Ramírez, M. Cruz-Gracida, S. Sandoval-Torres, G. Barriada-Bernal, Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content, *Food Chem.* 230 (2017) 174–181. doi:10.1016/j.foodchem.2017.03.010.
- [35] E.M.A. de Siqueira, F.R. Rosa, A.M. Fustinoni, L.P. de Sant’Ana, S.F. Arruda, Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple, *PLoS One.* 8 (2013) 2–8. doi:10.1371/journal.pone.0072826.
- [36] M.H. Ahmad-Qasem, E. Barraján-Catalán, V. Micol, A. Mulet, J.V. García-Pérez, Influence of freezing and dehydration of olive leaves (var. Serrana) on extract composition and antioxidant potential, *Food Res. Int.* 50 (2013) 189–196. doi:10.1016/j.foodres.2012.10.028.
- [37] M. Pinelo, B. Zornoza, A.S. Meyer, Selective release of phenols from apple skin: Mass transfer kinetics during solvent and enzyme-assisted extraction, *Sep. Purif. Technol.* 63 (2008) 620–627. doi:10.1016/j.seppur.2008.07.007.
- [38] Y. Tao, D. Wu, Q.A. Zhang, D.W. Sun, Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage, *Ultrason. Sonochem.* 21 (2014) 706–715. doi:10.1016/j.ultsonch.2013.09.005.
- [39] E.M.G.C. do Nascimento, A. Mulet, J.L.R. Ascheri, C.W.P. de Carvalho, J.A. Carcel, Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel, *J. Food Eng.* 170 (2016) 108–118. doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015.
- [40] M. Chen, Y. Zhao, S. Yu, Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses,

Food Chem. 172 (2015) 543–550. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.110.

CAPITULO III: Comparação entre a técnica extração convencional, assistida por ultrassom e CO₂ supercrítico: determinação da composição dos compostos bioativos por DI-ESI-MS e efeito antiproliferativo das cascas de *Muntingia calabura* L.

1. Introdução

A *Muntingia calabura* L. é conhecida popularmente como calabura ou cereja-das-Antilhas, pertencente à família Elaeocarpaceae, é considerada exótica, pioneira, de rápido crescimento, e que começa a dar frutos cerca de um ano após seu plantio (Mahmood et al., 2018). Os frutos quando estão maduros apresentam uma coloração avermelhado, possuindo polpa succulenta, doce e de agradável aroma, podendo ser consumido com casca e semente nas formas in natura, como geleia ou na forma de compota (Siqueira, Rosa, Fustinoni, de Sant'Ana, & Arruda, 2013).

Cada vez mais a utilização da espectrometria de massas, como por exemplo, a utilização dessa técnica juntamente com ionização por electrospray (ESI-MS) é aplicada para analisar qualitativamente e quantitativamente compostos fenólicos, antioxidantes, lipídeos entre outras características químicas dos alimentos (Rodrigo Ramos Catharino et al., 2005). As características da espectrometria de massas a elevaram a uma posição privilegiada entre os métodos analíticos, tais como: sensibilidade inigualável, velocidade de análise e diversidade de suas aplicações. Na química analítica, as aplicações mais recentes são na sua maioria voltadas para análises que envolvam os estudos de proteoma, metaboloma, lipidoma entre outros.

A extração com fluido supercrítico (SFE) tem sido utilizada como técnica alternativa para extração de óleos e compostos bioativos de diferentes tecidos vegetais, como sementes e cascas de frutas. A temperatura e a pressão críticas moderadas do dióxido de carbono (CO₂) tornam este solvente o mais utilizado atualmente (Barrales, Rezende, & Martínez, 2015) pois é um solvente incolor, inodoro, não tóxico, não inflamável, seguro, altamente puro e econômico (Babova, Occhipinti, Capuzzo, & Maffei, 2016).

Extração exaustiva com CO₂ ou com a mistura de outro solvente, mistura denominada como co-solvente (etanol, propano, propeno, entre outros), são usados para produzir extratos equivalentes aos obtidos com solventes orgânicos ou por tecnologia de prensagem-expulsão (Kraujalis & Venskutonis, 2013).

Uma vez a *Muntingia calabura* é considerada uma fruta com altas taxas de compostos fenólicos e antioxidantes, estudar o potencial genotóxico deste fruto é de grande importância. Nesse sentido, o método mais recomendado para a análise da genotoxicidade de um composto ou alimento é o sistema teste *Allium cepa*, que por meio de um conjunto de análises citogenéticas avalia alterações na divisão celular, determinando o índice mitótico, observando a inibição da divisão celular, e detecção de mutações por alterações cromossômicas (Bagatini, Fachinetti, Silva, & Tedesco, 2009; Kuhn et al., 2015).

O trabalho teve como objetivo comparar a extração com fluido supercrítico e as metodologias de extração convencional e assistida por ultrassom, determinar os compostos bioativos dos extratos pela técnica de espectrometria de massas e por fim analisar o efeito citotóxico das cascas de calabura, visto que essas análises para a casaca de calabura ainda não foram relatadas na literatura

2. Material e métodos

2.1. Material vegetal

Frutos de Calaburas (*Muntingia calabura*) maduros e com ausência de danos mecânicos foram colhidos no campus sede da Universidade Estadual De Maringá (UEM) na cidade de Maringá– Paraná latitude: 23 ° 25'31 "S; Longitude: 51 ° 56'19"W) em outubro de 2017. Os frutos de calabura foram selecionados e higienizados com solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm durante 15 minutos (min) a 25°C, posteriormente enxaguados com água destilada e cortados ao meio para separação da casca e polpa. As cascas foram encaminhadas para o processo de secagem.

A polpa do fruto foi lavada e peneirada várias vezes com água corrente (método do arraste) com o objetivo de separar as sementes da polpa. Após o processo de lavagem, a solução contendo as sementes foi centrifugada a 3500 rpm durante 5 min (Centrifuga Laboratorial marca DAIKI - Modelo 80-2B DM) e a fase superior retirada com uma pipeta de Pasteur, o soluto rico em sementes foi encaminhado à secagem. O teor médio de umidade inicial das amostras foi determinado com estufa de ar quente (Modelo MA035/1) de acordo com o método AOAC método 934,06 (AOAC, 1990) a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24h, em triplicata.

2.2. Processo de secagem das amostras

Cascas: foram distribuídas uniformemente em bandejas e secas por convecção forçada utilizando estufa com ventilação de ar (Modelo MA035/1) a 1m/s em temperatura de 60 ± 2 °C por 9h. A temperatura de secagem utilizada neste trabalho foi escolhida mediante a trabalhos anteriores. As cascas secas por convecção foram moídas em liquidificador industrial (Modelo JI Colombo, 700 Watts) para a obtenção de uma farinha e peneiradas em Tyler (WS Tyler, Ohio, EUA) para selecionar tamanhos de partículas entre -20 a +60 mesh (partículas que passam pela peneira de 20 e ficam retidas na de 60 mesh).

Sementes: a solução rica em sementes foi seca na estufa de circulação de ar em temperatura de 50 °C durante 24h, conforme (Barrales et al., 2015). A amostra foi triturada e normalizada em peneiras de Tyler nos tamanhos de 30 e 60 mesh.

As amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno laminado a vácuo, para diminuir perdas de compostos fotossensíveis, e armazenadas em freezer convencional a temperatura de -18°C, para conservação das mesmas.

2.3. Extração pela técnica convencional e assistida por ultrassom

A extração dos compostos bioativos das cascas de calabura foi preparada com um solvente hidroalcolico de etanol-água (1:1 v/v). Estudos anteriores do grupo e de outros autores mostraram que a solução etanoica 50% alcançou os melhores resultados na extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante (Do et al., 2014; Espada-Bellido et al., 2017; Tao, Wu, Zhang, & Sun, 2014). Os extratos foram obtidos com modificações do método de Singh, Chidambara Murthy, & Jayaprakasha (2002) As amostras de cascas, em proporção de 1:25 de mg/mL (casca/solvente), quantidades definidas em ensaios preliminares, com um volume total de 100 mL, foram colocadas em erlenmeyer (250 mL) e homogeneizadas por 5min em um homogeneizador (Modelo 752A – Fisatom) em temperatura de 25°C.

O sistema de banho ultrassônico em contato indireto (Modelo USC – 1400) com frequência ultrassônica de 40 kHz e potência ultrassônica de 135 Watts RMS foi utilizado para a extração dos compostos bioativos. Simultaneamente, o erlenmeyer foi acoplado no equipamento ultrassônico e iniciou a aplicação do método de extração. O

método convencional (maceração) de extração, foi realizado após a extração com banho ultrassônico, ou seja, foi utilizado o mesmo equipamento, porém com a máquina desligada. As condições de extração (tempo, temperatura e solvente) para ambas as metodologias foram idênticas para fins de comparação, em temperatura de 50 °C e tempo de 60 min, uma vez que esses parâmetros foram relatados como os melhores para extração de compostos bioativos em pesquisas realizadas anteriormente. Os extratos foram codificados como EAU (extração assistida por ultrassom) e ECV (extração convencional).

2.4. Extração pela técnica Supercrítico CO₂ (SCE-CO₂)

A extração com fluido supercrítico foi realizada em um aparelho experimental conforme (Trentini et al., 2017). O aparelho projetado é composto por um cilindro de solvente (CO₂, White Martins SA com pureza de 99,9%), uma bomba de seringa (Isco 500D), dois banhos termostáticos (Julabo F25-ME e Quimis Q214M2) e um vaso extrator de aço inoxidável nas dimensões de 19,4cm de comprimento e 1,95cm de diâmetro interno. A extração com fluido supercrítico foi realizada utilizando a casca secas moídas (+60mesh) em sinergia com as sementes de calabura como co-solvente, a fim de aumentar o rendimento da extração.

Na primeira extração, o extrator foi carregado com 15,06 ± 0,02g de casca mais 15,01 ± 0,02g de semente (retidas em 30 mesh, diâmetro médio 0,595 mm) (amostra SC30) e a segunda extração com 15,07 ± 0,02g de casca mais 15,17 ± 0,02g de semente (retidas em 60 mesh, diâmetro médio 0,250 mm) (amostra SC60). A temperatura e a pressão de extração foram fixadas em 50 °C e 250 bar, respectivamente. Essa temperatura foi escolhida por facilitar a transferência de massa (solvente/soluto), melhor comparação com os outros métodos de extração e por ser utilizada por outros pesquisadores na extração de compostos bioativos (Babova et al., 2016; Ben Mohamed et al., 2016; Malaman, Moraes, West, Ferreira, & Oliveira, 2011) (MALAMAN et al., 2011; BEN MOHAMED et al., 2016; BABOVA et al., 2016).

O equipamento foi estabilizado por 20 min com as condições estabelecidas, deu-se início a extração a uma taxa de fluxo de 4,8 mL min⁻¹ e 4,1 mL min⁻¹ de CO₂ supercrítico para SC30 e SC60, respectivamente. Os extratos foram recolhidos em frascos âmbar e a pesagem realizada em intervalos de quatro corridas de 5min, quatro

de 10 min e posteriormente em intervalos de 20 min até estabilização da massa. O período de extração das amostras SC30 e SC60 durou 80 min. O rendimento das extrações foi calculada a partir da razão entre a massa extraída e massa total (casca e semente) (Santos, Souza, Ferreira, & Oliveira, 2015).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa extraída}}{\text{Massa inicial}} \times 100 \quad (1)$$

2.5. Composição dos extratos

2.5.1. Injeção direta em espectrometria de massas com ionização electrospray - DI-ESI-MS para análise dos compostos bioativos

A composição dos extratos de casca de calabura (EAU, ECV, SC30 e SC60) foi analisada pelo método de espectrometria de massas DI-ESI-MS (Espectrômetro de massas quatro premiers XE triplo quadrupolo Waters, de resolução unitária). Para fins de melhor varredura dos compostos existente realizou a injeção no modo DI-ESI(+)-MS (injeção direta em espectrometria de massas com ionização electrospray em modo positivo) e a DI-ESI(-)-MS (injeção direta em espectrometria de massas com ionização electrospray em modo negativo). Além de determinar os compostos bioativos presentes nos quatro extratos, determinou-se também o perfil de triacilgliceróis nos óleos extraídos usando CO₂ supercrítico. Foram realizados alguns testes para obter a concentração ideal de extratos para injeção no espectrômetro de massas.

Na determinação dos compostos bioativos nos extratos de calabura utilizou-se 50µL de solução estoque de calabura (50µL da amostra de extrato homogeneizada com 20 mL de metanol em um balão volumétrico e deixada em banho ultrassônico por 20 min) juntamente com 1950 uL de solução transportadora. Como foram realizadas duas análises, em modo positivo e modo negativo, as soluções transportadoras utilizadas foram as seguintes: para modo positivo preparou-se a solução de ácido fórmico 0,1% (v/v) em 50 mL de metanol (ST-AF 0,1%) e no modo negativo a solução com metanol (MEOH) mais hidróxido de amônio (NH₄OH) 0,1% (v/v), metodologia baseada em Rodrigo Ramos Catharino et al., (2005).

Para determinar o perfil de triacilgliceróis a solução estoque preparada com a solubilização de 25 uL de extrato de óleo de calabura (SC30 e SC60) em 10 mL metanol e deixado em ultrassom por 10 min. Em seguida, essa solução estoque foi diluída utilizando 50 uL da mesma juntamente com 1950 uL de uma solução transportadora que foi preparada com 50 mL de metanol, ácido trifluoracético (TFA) 0,1 % (v/v) e éter coroa (18-coroa-6) 0,034 mg.mL⁻¹ (Tonin et al., 2017).

Todas as amostras foram preparadas em ependorfs de 2 mL, e após homogeneizadas em agitador de tubos injetadas no espectrômetro de massas.

2.5.2. Injeção direta em espectrometria de massas com ionização electrospray - DI-ESI-MS para análise triacilgliceróis (TAGs)

Uma solução transportadora foi preparada com metanol (MEOH), ácido trifluoracético (TFA) 0,1 % (v/v) e éter coroa (18-coroa-6) 0,034 mg.mL⁻¹. Os parâmetros escolhidos para a análise estão apresentados na Tabela 12. Após a escolha dos parâmetros, a análise foi realizada nas amostras SC30 e SC60, os óleos foram injetados no espectrômetro de massas no modo negativo DI-ESI(-)-MS por injeção direta. Os espectros obtidos, foram analisados e processados pelo software Masslynx (Waters), apresentando vários ions sodiados [M+Na]⁺ e potassiados [M+K]⁺. Vale ressaltar que a identificação dos TAGs foi a nível qualitativo e não quantitativo, onde a denominação foi realizada mediante a somatória dos carbonos dos ácido graxos e a abreviação do nome do ácido, sendo P= ácido palmítico, Po= ácido palmitoleico, S= ácido esteárico, O= ácido oleico, L= ácido linoleico, Ln= ácido linolênico, La= ácido Láurico e M= ácido Místico, sendo que a sigla pra um TAG é composta pelas abreviações dos três ácidos que o compõem.

Tabela 7. Parâmetros selecionados para a análise de TAGs no sistema DI-ESI(-)-MS de sementes de *Muntingia calabura* .

Parâmetro	Condições selecionadas
Capilar	3,5kV(+)
Cone	50V
Extrator	5V
T. de dessolvatação	400°C (+)
Fluxo do gás de dessolvatação	300L/h
Fluxo do gás do Cone	0L/h

2.5.3. Compostos Fenólicos Totais (TPC)

O teor de compostos fenólicos totais (TPC) foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau (FC), conforme (V. L. Singleton & Rossi, 1965). Resumidamente, uma alíquota de 125 μL de extrato foi transferida para um tubo de ensaio onde adicionou-se 125 μL do reagente de FC 50% e 2250 μL de Carbonato de sódio (Na_2CO_3 - 3,79 M). A reação ficou em repouso por 30 minutos em ausência de luz. Para a amostra de calibração utilizou 125 μL de Ácido Gálico como padrão de referência, acrescido de 125 μL de FC e 2250 μL de Carbonato de Sódio, procedeu-se da mesma forma que a amostra.

A leitura de absorvância foi realizada em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 725 nanômetros (nm). A quantificação de fenóis totais nos extratos, em triplicata, foi expressa em mg Ácido Gálico/100g de amostra, utilizando a curva padrão de ácido gálico. As concentrações foram expressadas em equivalente de ácido gálico (GAE) por gramas de massa vegetal.

2.5.4. Poder de redução do Ferro (FRAP)+

O método foi determinado de acordo com Benzie & Strain (1996) onde a solução FRAP foi preparada pela combinação de tampão acetato (300 mmol L⁻¹), solução de cloreto férrico hexa-hidratado (FeCl₃) (20 mmol L⁻¹) e solução tripyridyltriazine (TPTZ) (10,0 mmol L⁻¹ em 1,00 mol L⁻¹ de ácido clorídrico-HCL) numa razão 10:01:01 (v:v:v), a solução foi utilizada imediatamente à sua preparação. Foi transferido 90µL de extrato, 270µL de água destilada e 2,7mL do reagente FRAP para tudo de ensaio, homogeneizado em agitador de tubos e mantido em incubação a 37° C em banho-maria por 30min, a leitura da absorbância foi medida em comprimento de onda de 595 nm. Utilizou o reagente FRAP como branco para calibração. O potencial antioxidante dos extratos em triplicata foi determinado com base na curva de calibração, traçada usando Sulfato Ferroso (FeSO₄) (2 mmol L⁻¹), e expressa em µM TRolox/ g de amostra.

2.6. Teste do *Allium cepa*

A metodologia utilizada foi a proposta do Fiskesjo (1985) com modificações. A material vegetal utilizada foram bulbos de cebola (*Allium cepa*), onde foi retirado o catafilo externo após período de incubação. Como os extratos SC30 e SC60 eram óleos para esse teste não foi possível utilizá-los. No teste foram utilizadas cinco cebolas para cada tratamento. O caule da cebola foi raspado com auxílio de bisturi e colocados em água destilada por 48h em fotoperíodo, a fim de estimular o crescimento das raízes. Após, as cebolas foram lavadas e imersas nos tratamentos EAU e ECV, como controle negativo foi utilizada água destilada e controle positivo sulfato de cobre 0,6%.

As raízes permaneceram sobre tratamento durante mais 48 horas. Em seguida, foram aleatoriamente cortadas, lavadas em água destilada e fixadas em Carnoy (15 mL de Álcool etílico em 5 mL de Ácido acético) durante 24 horas. O material foi hidrolisado em HCl 1 M durante 5 min a 60° C, lavado com água destilada, e colocado sob lâmina de microscopia e corado comorceína acética a 2%, para melhor observação celular fez-se o esmagamento do material. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico com aumento de 100 X pela técnica de varredura. Foram contadas 1000 células meristemáticas por lâminas, totalizando 5000 células por tratamento. As células meristemáticas foram classificadas de acordo com o estágio do ciclo celular em

interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Estes dados foram utilizados para calcular o índice mitótico (IM) e índice de fase (IF), segundo as fórmulas:

$$\text{Índice Mitótico (\%)} = \frac{\text{Número de células em mitose}}{\text{número total de células}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Índice de cada Fase (\%)} = \frac{\text{Número de células em cada fase}}{\text{número total de células em mitose}} \times 100 \quad (3)$$

2.7. Análise Estatística

As análises do teste do *Allium cepa* foram constituídas de cinco repetições por tratamento. Os resultados submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

3. Resultados e Discussão

3.1. Extração pelo fluido supercrítico (SFE – CO₂)

As cascas de *M. calabura* são ricas em compostos fenólicos e antioxidantes, conforme já foi visto em outros trabalhos. No presente trabalho a técnica de extração utilizando fluido supercrítico CO₂ foi realizada com intuito de comparar seu desempenho com o método mais tradicional (maceração) e com um de menor impacto gradativo, assistida por ultrassom. A Figura 16 mostra as curvas de rendimento das extrações com fluido supercrítico CO₂ com cascas de calabura secas por convecção à 60 °C e utilizando as sementes do fruto como co-solvente. Em ambas as extrações, houve variação da partícula de semente para fins de comparação de rendimento.

A imagem (A) referente a amostra SC30, demonstra que houve uma estagnação de extração rápida, sendo que, aos 50 min a curva de extração já iniciou a estabilização, e aos 80 min a finalização do processo. Para a imagem (B), com amostra SC60, o rendimento se manteve contínuo mesmo após os 80min de extração.

A variação observada entre os rendimentos das amostras SC30 e SC60 é de 44%. Na terceira imagem observa-se que a curva da amostra SC60 manteve-se crescente no mesmo tempo de estagnação da amostra SC30, onde as curvas se

encontram no tempo de 40 min. Essa variação, provavelmente, se deu por causa do fator tamanho de partícula utilizada no co-solvente das amostras, sendo o tamanho médio de partícula da amostra SC60 mais baixo ($0,595 > 0,250$ mm).

O uso de variação de parâmetros de extração interfere no aumento de rendimento, conforme já estudado por Venskutonis et. al. (2013) que variaram a porcentagem de co-solvente na extração de amaranth e obtiveram diferença notável rendimento. Ao processar sementes de coentro, Zekovic et. al. (2015) relataram que o tamanho médio da partícula influenciou no rendimento da extração, ou seja, a redução do tamanho de partícula aumenta o rendimento de extração total significativamente.

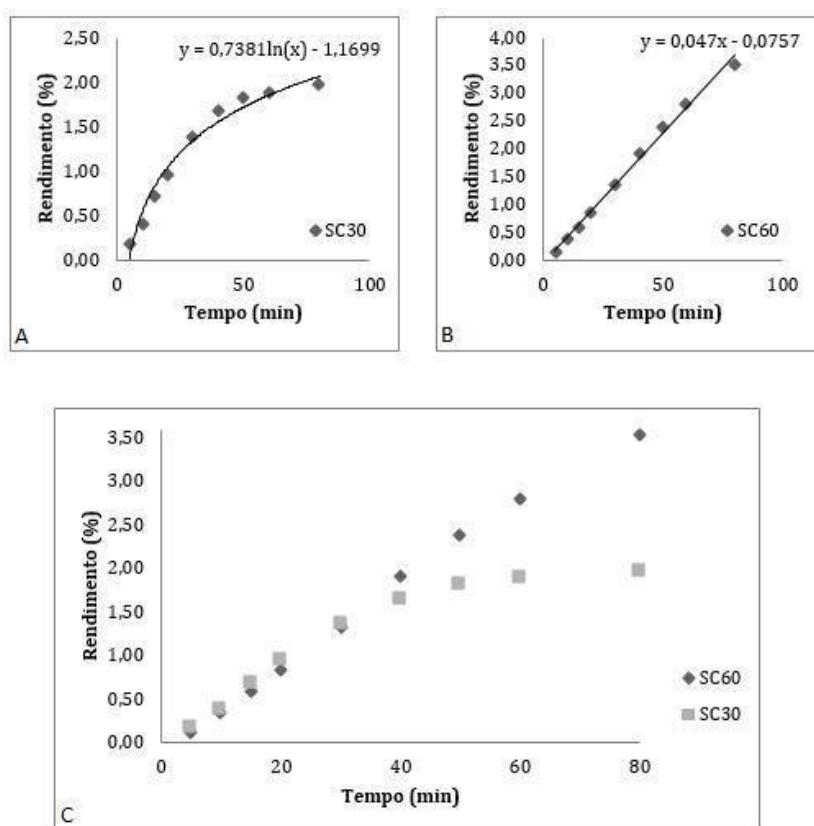


Figura 10. Curvas de extração com fluido supercrítico CO₂ obtidas para as cascas de *Muntingia calabura* a uma pressão de 250bar, temperatura de 50° C e tempo de 80min. Para (A): taxa de fluxo SCCO₂ de 4,8 mL min⁻¹ para amostra SC30, (B): taxa de fluxo SCCO₂ de 4,1 mL min⁻¹ para amostra SC60, (C): comparação das curvas de rendimento das duas amostras.

3.2. Determinação do perfil de Triacilgliceróis (TAGs) do óleo de *Muntingia calabura* extraído por fluido supercrítico CO₂

A estrutura química dos óleos vegetais é uma das mais complexas, sendo constituídos por estruturas como os triacilgliceróis (TAGs) e em pequenas quantidades de ácidos graxos (AGs) livres e mono- e diacilglicerídeos (DAGs) oriundos de processos de degradação. Os triacilgliceróis observados nas sementes de calabura estão representados na Figura 17.

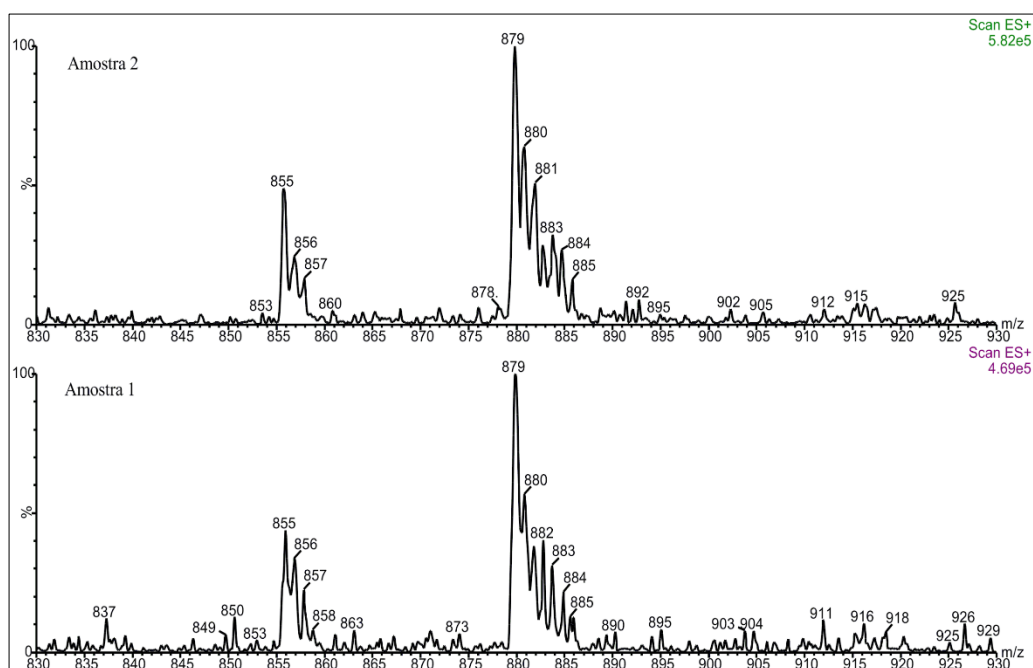


Figura 11. Espectros resultantes da análise das amostras SC30 (amostra 2) e SC60 (amostra 1), os óleos foram injetados no espectrômetro de massas no modo negativo DI-ESI(-)-MS por injeção direta.

Sendo assim, os TAGs identificados nas amostras SC30 e SC60 de íons $[M+H]^+$ e com uma incidência de Na^+ e K^+ , com $[M+H]^+$ atribuídas foram POL (C52:3, m/z 857) no íon fragmentado 879 $[M+Na]^-$, POO (C52:2, m/z 859) no íon fragmentado 881 $[M+Na]^-$, LLL (C54:6, m/z 879) no íon fragmentado 855 $[M+Na]^-$, OLL (C54:5, m/z 881) fragmentado 880 $[M+H]^+$, LLL (C54:6, m/z 896) no íon fragmentado 856 $[M+K]^-$, LLL (C57:5, m/z 919) no íon fragmentado 879 $[M+K]^-$.

3.3. Determinação dos compostos bioativos das cascas de calabura

A composição dos compostos bioativos extraídos foi determinada usando DI-ESI(+)-MS e (-), e a identificação foi realizada de acordo com a literatura. O método DI-ESI(+)-MS e (-) é caracterizado por fragmentar os íons positivos e negativos, para fim de caracteriza-lo pelo peso molecular. No caso, os íons negativos [M-H]⁻ foram formados a partir da retirada de prótons, já para o modo positivo, há a adição de elétrons. Além dos ions sodiados e protonados, foram analisados a formação e/ou expulsão de água da molécula [M+H₂O]⁻ e de outros adutos como CO₂.

Os resultados (Tabela 13) mostram que o óleo extraído com SC30/SC60 foi mais enriquecido em compostos bioativos individuais, sendo 18 compostos ao todo, em comparação com a extração convencional e ultrassom, onde foram encontrados 12 compostos. As moléculas identificadas de acordo com os padrões injetados para compostos fenólicos foram: ácido cafeico, ácido elágico, ácido gálico, ácido sinápico, ácido siríngico, enterodiol, isopimpinellin, juglone, p-coumaroyl malic acid, vanilina, phloretin, em relação aos flavonoides e derivados foi identificado a presença de quercetin, β-sitosterol, 7-hydroxyflavanone, natsudaidain, 3-hydroxyflavone, myricetin e para antocianinas Petunidin-3-O-arabinoside, cyanidin 3-galactoside, cyanidin 3-glycosided, Petunidin-3-O-glucoside, Petunidin-3-O-galactoside.

Estes resultados foram similares aos de outros autores. Ao analisar extratos de compostos bioativos em frutos de *M. calabura*, Deng Yang-Jye et. al. (2017) isolaram e identificaram o ácido gálico e o 1,2-Benzenedicarboxylic ácido, diisooctyl ester através da espectrometria líquida de alta eficiência (HPLC-MS). Rotta et. al. (2017) determinaram os compostos fenólicos e a atividade antioxidante de cascas de *M. calabura* por meio de HPLC-DAD e UPLC-ESI-MS/ MS e isolaram o ácido clorogénico, ácido gálico, ácido ferulico, myricetin e ácido vanílico Hassimotto (2015) encontrou as mesmas antocianinas da pesquisa em modo positivo POR DI-ESI(+)-MS. A presença de ions sodiados [M+Na]⁺ foi consideravelmente baixa quando comparado com ions de formação ou perda de moléculas de água [M+H₂O]⁻.

Tabela 8. Identificação de conteúdo de compostos bioativos nas casca de M. calabura obtidos por extração CO₂ supercrítico, ultrassom e convencional e identificado por DI-ESI-MS positivo e negativo.

Composto provável	[M] ⁺ (m/z)	Ion fragmentado (m/z)	Modo	Extrato
Ácidos Fenólicos/derivados				
3,4',5-Trihydroxysylbene-3-b-D-glucopyranoside	390	MS[390]: 391[M-H]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60
1,2-Benzenedicarboxylic acido, diisooctyl ester	390	MS[390]: 391[M-H]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60
3-O-methylgallic acido	184	MS[184]: 203[M-H ₂ O]	DI-ESI(+)-MS	ECV/EAU
Acido cafeico	180	MS[180]: 179[M-H]	DI-ESI(-)-MS	ECV/EAU
		MS[180]: 163[M-H ₂ O]	DI-ESI(+)-MS	ECV/EAU
Acido elagico	302	MS[302]: 283[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
Acido gálico	170	MS[170]: 169[M-H]	DI-ESI(-)-MS	ECV/EAU
		MS[224]: 179[M-CO ₂]	DI-ESI(-)-MS	ECV/EAU
Acido sinapico	224	MS[224]: 205[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	ECV/EAU
		MS[198]: 179[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	ECV/EAU
Acido siringico	198	MS[198]: 179[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	ECV/EAU
Enterodiol	302	MS[302]: 383[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
Isopimpinellin	246	MS[246]: 203[M-CO ₂]	DI-ESI(+)-MS	ECV/EAU
		MS[174]: 198[M-Na]	DI-ESI(+)-MS	ECV/EAU
Juglone	174	MS[174]: 219[M-CO ₂]	DI-ESI(+)-MS	ECV/EAU
		MS[280]: 279[M-H]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
p-Coumaroyl malic acid	280	MS[280]: 279[M-H]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
Vanilina	152	MS[152]: 133[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	ECV/EAU
		MS[152]: 169[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	EAU/ECV
Phloretin	274	MS[274]: 255[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
		MS[274]: 275[M-H]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60

Flavonols

Quercetin	302	MS[302]: 283[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
β-sitosterol	414	MS[414]: 415[M-H]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60
7-Hydroxyflavanone	240	MS[240]: 283[M-CO ₂]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
Natsudaïdain	418	MS[418]: 419[M-H]	DI-ESI(+)-MS	SC60
3-Hydroxyflavone	238	MS[238]: 255[M-H ₂ O]	DI-ESI(-)-MS	SC30/SC60
Myricetin	318	MS[318]: 275[M-CO ₂]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60
		MS[318]: 319[M-H]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60

Antocianinas

Petunidin-3-O-arabinoside	449	MS[449]: 432[M-H ₂ O]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60
cyanidin 3-galactoside	449	MS[449]: 432[M-H ₂ O]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60
cyanidin 3-glycosided	449	MS[449]: 432[M-H ₂ O]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60
Petunidin-3-O-glucoside	479	MS[479]: 457[M-Na]	DI-ESI(+)-MS	ECV/EAU
Petunidin-3-O-galactoside	479	MS[479]: 457[M-Na]	DI-ESI(+)-MS	SC30/SC60

*[M]: molécula desprotonada; m/z: número de massa iônica/carga

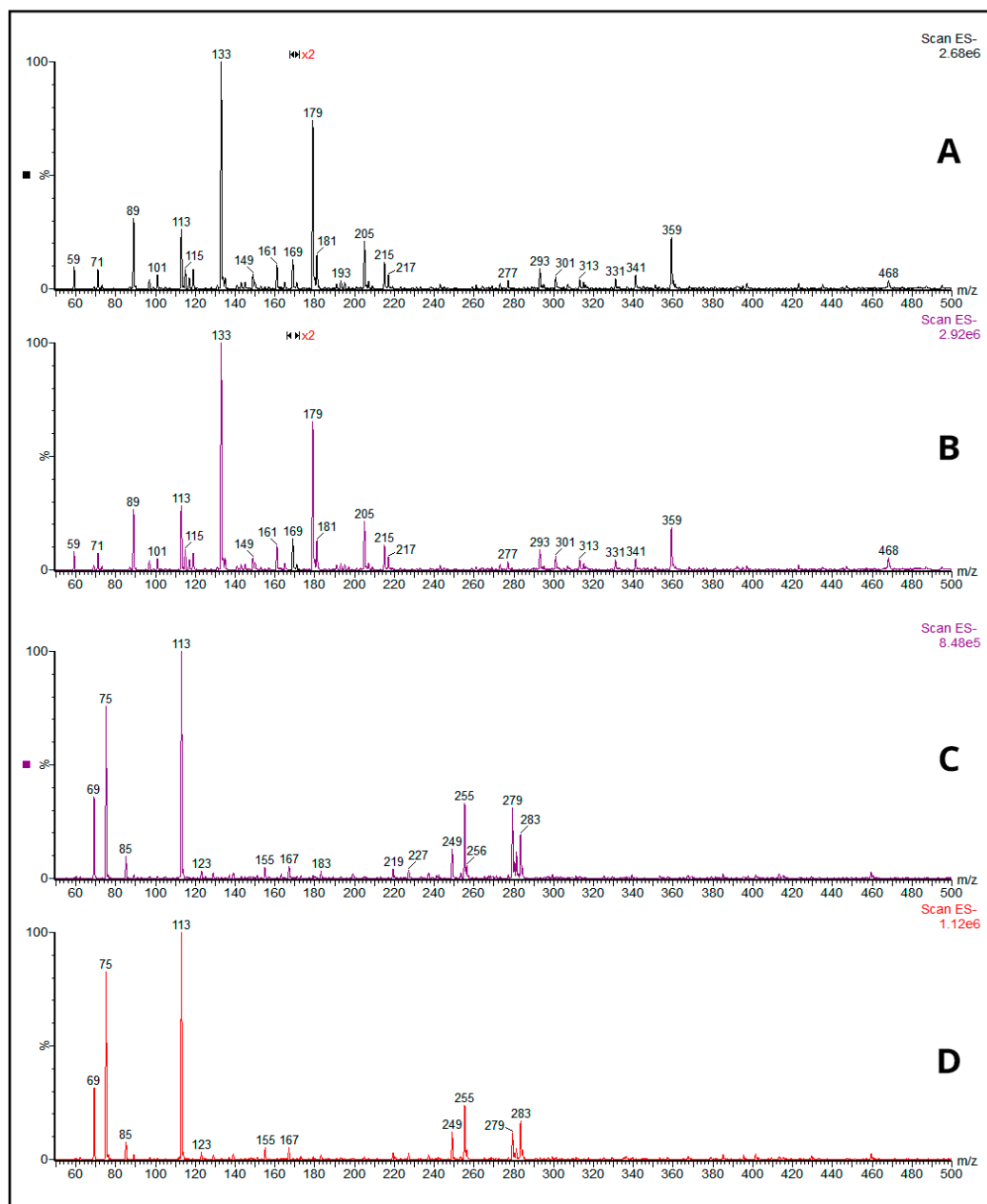


Figura 12. Determinação de compostos bioativos de cascas de calabura por modo negativo-MEOH-NH₄OH 0,1% usando DI-ESI-MS. Sendo A: amostra ECV, B: amostra EAU, C: amostra SC30 e D; amostra SC60.

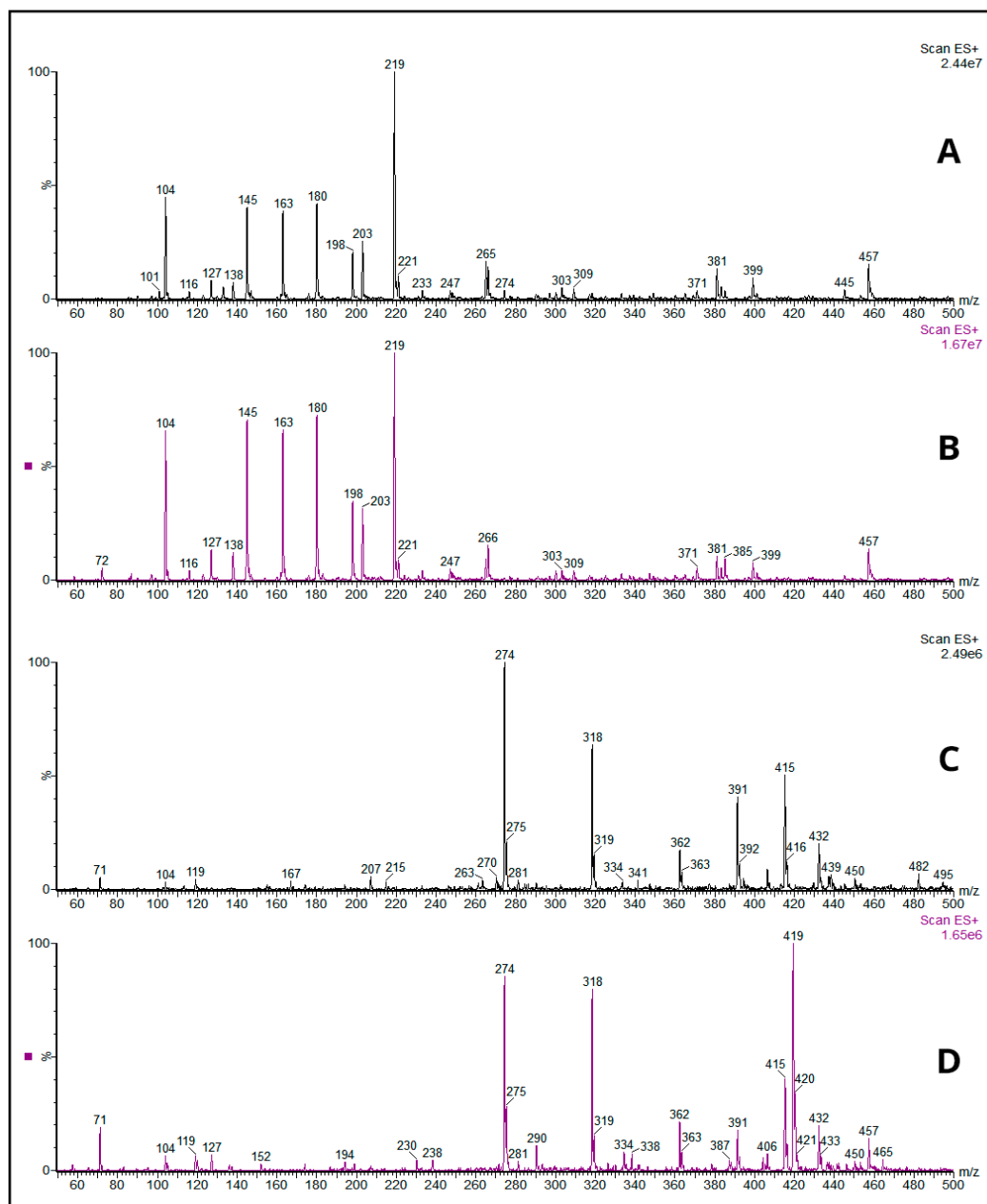


Figura 13. Determinação de compostos bioativos de cascas de calabura por modo positivo-MEOH-NH₄OH 0,1% usando DI-ESI-MS. Sendo A: amostra ECV, B: amostra EAU, C: amostra SC30 e D; amostra SC60.

3.4. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Para avaliar o rendimento dos métodos de extração sobre os compostos bioativos foram realizadas as análises de poder de redução férrico (FRAP) e concentração de compostos fenólicos totais (TPC). A Tabela 14 mostra que a maior concentração de antioxidantes e compostos fenólicos foi encontrada nos extratos por CO₂ supercrítico. Quando comparado os métodos de extração não convencionais, ultrassom e CO₂ supercrítico (amostra SC60), observa-se que extração ultrassônica apresentou uma taxa de 28% menor na concentração de compostos fenólicos, em relação a outra técnica. O mesmo fenômeno se deu para a extração de compostos antioxidantes (FRAP) onde a taxa de diferença entre as técnicas foi de 21%. Em relação as duas amostras de extração para CO₂, SC30 e SC60, onde houve variação de partículas, a segunda amostra apresentou maiores valores para TPC e FRAP, contudo não houve diferença significativa entre as amostras.

Mei-Yang et. al. (2009) realizaram a extração com fluido supercrítico de antioxidantes de folhas de *Cajanus cajan* L. e também encontraram os maiores rendimentos de extração com fluido supercrítico do que com extração convencional, eles explicam que essa diferença se dá por causa da maior ruptura da morfologia celular vegetal causada pelo CO₂ supercrítico.

Maffei et. al. (2016) extraíram antioxidantes de *Vaccinium myrtilloides* usando CO₂ supercrítico com etanol como co-solvente, e compararam o extrato com extração convencional e encontrando valores de rendimento mais eficientes para a primeira técnica. Bernardo-Gil et. al. (2016) extraíram antioxidantes de mirtilo usando fluido supercrítico e extração convencional variando alguns parâmetros, como pressão e temperatura, e observaram que esses critérios influenciam significativamente nas taxas de extração de compostos fenólicos.

Tabela 9. Atividade antioxidante (FRAP $\mu\text{Trolox}/100\text{g}$) e compostos fenólicos totais (TPC mgGAE/g massa seca) das extrações com fluido supercrítico CO_2 , assistida por ultrassom e convencional das cascas de calabura.

Ensaio	EAU	ECV	SC30	SC60
TPC	1453,00 \pm 92,60 ^b	1384,67 \pm 57,52 ^{bc}	1985,00 \pm 35,42 ^a	2010,89 \pm 68,75 ^a
FRAP	1498,96 \pm 49,34 ^b	1492,46 \pm 79,12 ^b	1859,54 \pm 38,91 ^a	1937 \pm 48,62 ^a

Resultados expressos com média \pm desvio padrão (triplicata). ^{abcd} Os valores com as mesmas letras minúsculas na mesma linha não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

3.5. Efeito citotóxico e antiproliferativo dos extratos de casca de *M. calabura* (Teste *Allium cepa*)

Kaneda e colaboradores (1991) foram os primeiros pesquisadores a estudarem a atividade citotóxica da *Muntingia calabura*, eles utilizaram as raízes da planta para realizar a extração dos compostos bioativos com solução metanoica. O extrato foi testado contra BC1 (cancro da mama humano), HT-1080 (brossarcoma humano), LU1 (cancro do pulmão humano), ME12 (melanoma humano), CO12 (cancro do cólon humano), KB (carcinoma nasofaríngeo humano), KB-V (vincristina resistente KB), e P-388 (leucemia murina linfocítica), e concluíram que boa parte dos compostos extraídos exerceram efeito citotóxico nas células avaliadas.

Recentemente, Sufian et al. (2013) isolaram quatro compostos de folhas de *M. calabura*, utilizando água, éter de petróleo e acetato de etilo como solventes extratores. Os extratos foram testados em células de cancro (adenocarcinoma da mama humana), HL-60 (leucemia linfoblástica aguda humana), HCT-116 (carcinoma do cólon tipos de tumores) e células normais WRL-68 (fígado embrionário tipo não-tumor humano) onde resultou que extratos aquosos não tiveram efeito citotóxico sobre as células, contudo resultados positivos foram verificados para os extratos utilizando acetato de metila, composto orgânico oxigenado, e éter de petróleo (hidrocarboneto)

Com base nos relatos citados, e pesquisa na literatura, ainda não foram realizadas análises citotóxicas com cascas dos frutos de *M. calabura*. Sendo assim, o estudo verificou os efeitos biológicos dos extratos com solvente verde hidroalcolico (etanol 50%) das cascas sobre o ciclo celular de um material vegetal (*Allium cepa*).

Segundo Tedesco et. al. (2015) o teste A. cepa pode ser muito bem utilizado como uma bioindicador para avaliar o potencial genotóxico de compostos químicos.

A Figura 20, ilustra o efeito dos extratos sobre o crescimento radicular das raízes de cebola (índice mitótico). Os extratos EAU e ECV não foram significativamente diferentes ao controle positivo, sendo a redução ou inibição do comprimento das raízes uma característica das divisões celulares que cessaram, sendo possível afirmar que os extratos têm efeito citotóxico sobre o crescimento raízes de cebola.

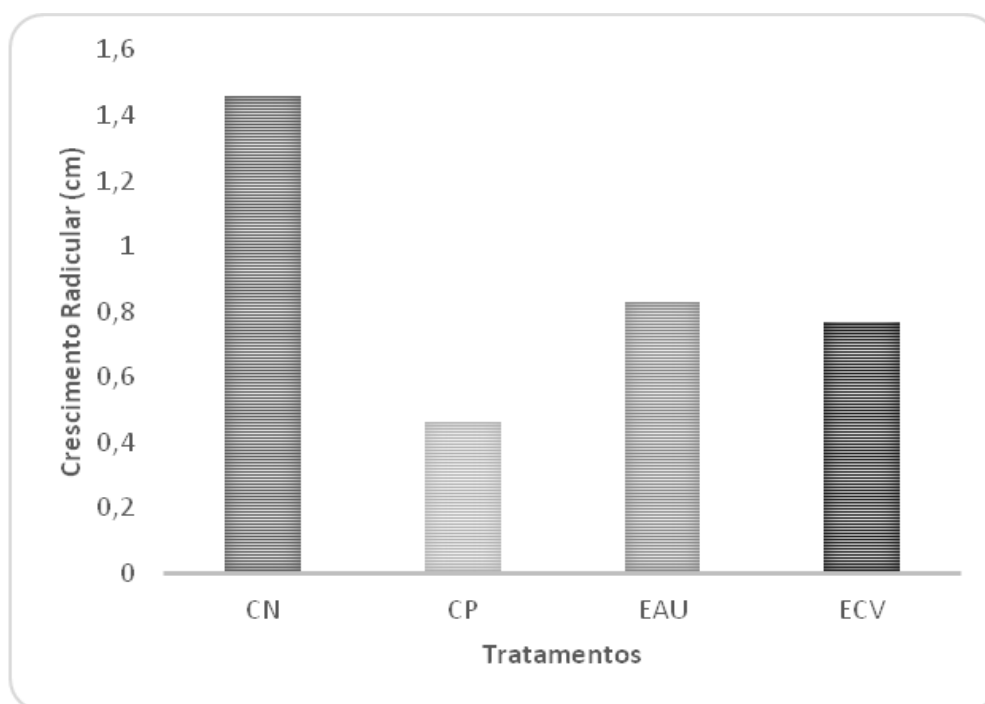


Figura 14. Efeito citotóxico sobre o crescimento radicular de *Allium cepa* durante 48 horas utilizando água (controle negativo - CN), sulfato de cobre (controle positivo -CP) e os extratos ECV e EAE como tratamentos.

A partir do resultado do índice mitótico foi analisado o índice de fases, em microscópio, a Figura 21 mostra as divisões celulares encontradas durante a observação das placas com raízes tratadas com os extratos. As porcentagens de células encontradas em cada fase da divisão celular estão apresentadas na Tabela 22.

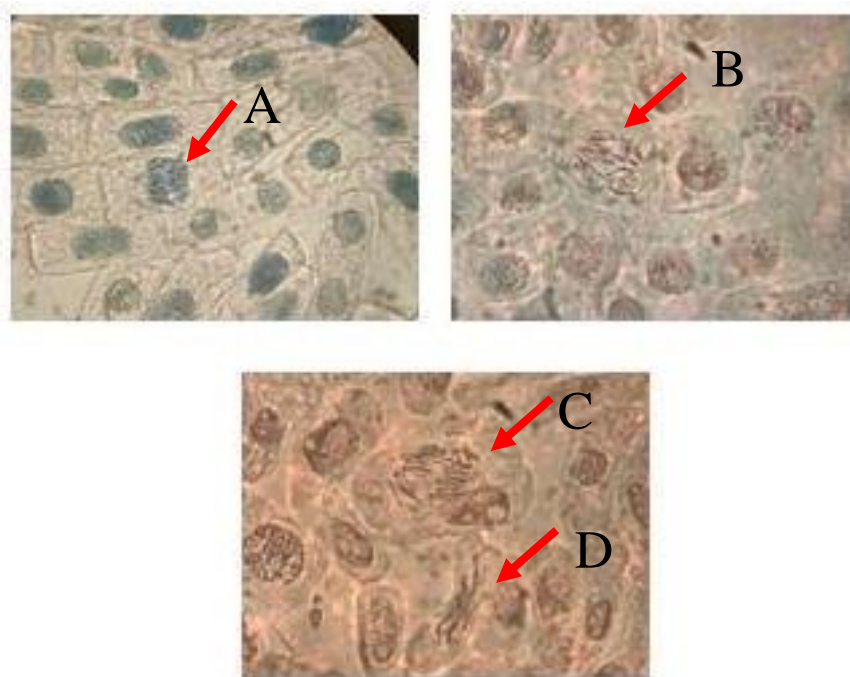


Figura 15. Células em fases de divisão em leitura das lâminas em microscópio óptico com aumento de 100 X pela técnica de varredura dos extratos de EAU.

Tipos: A – prófase, B e C – anáfase, D – metáfase.

Figura 16. Índice de fase de células meristemáticas de *Allium cepa* sobre extratos de casca de *M. calabura*.

TRATAMENTOS	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase
CN	11,68 ± 1,70	3,18 ± 0,87	1,34±0,33	1,68±1,04
CP	1,66 ± 0,86	0,06 ± 0,08	0,00±0,00	0,1±0,14
ECV	12,67 ± 7,16	7,33 ± 12,66	1,33 ± 0,58	1 ± 0
EAU	4 ± 4,62	1 ± 0	1 ± 0	1,33 ± 0,58

Pode-se observar que o número de células na fase prófase foi bem superior entre os tratamentos e os controles, sendo que, o extrato ECV apresentou valores bem superiores aos demais. Nota-se que conforme se passa as fases do ciclo celular, a contagem de células diminui progressivamente. O extrato que apresentou os valores mais próximos ao controle negativo foi o EAU, podendo ser considerado como um ótimo antiproliferativo. A única tentativa para estudar a atividade antiproliferativo de *M. calabura* foi feita por Zacharia et al. (2011), que estudaram atividade antioxidante

das folhas sobre células cancerígenas e não cancerígenas. Os resultados demonstraram que somente os extratos metanoicos obtiveram resultados positivos sobre a atividade antiproliferativa das células analisadas.

Salleh et. al. (2011) realizaram as análises in vitro antiproliferativo de extratos aquosos, metanoico e clorofórmico de *M. calabura* pelo ensaio MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il] -2,5-difenil tetrazólio. O estudo demonstrou que os extratos de folhas de *M. calabura* possuíam atividade antiproliferativas contra vários tipos de células cancerosas, o que poderia ser atribuído a suas propriedades antioxidantes e altos conteúdos polifenólicos.

Em conjunto com os resultados das células analisadas e a literatura, pode se afirmar que as cascas de *M. calabura* possuem efeito citotóxico e antiproliferativo. Esse efeito se dá pela alta concentração de compostos fenólicos encontrados nos extratos analisados, tais compostos bioativos são responsáveis pela inibição da divisão celular em células meristemáticas.

4. Conclusão

O extrato com menor partícula de co-solvente (sementes de calabura) no método de extração com fluido supercrítico apresentou os maiores valores para FRAP e TPC quando comparado com o método de ultrassônico e convencional. A determinação de compostos bioativos utilizando DI-ESI-MS deparou-se com fenólicos, flavonoides e antocianinas presentes nos extratos de calabura, sendo a vanilina o composto com os maiores índices. A análise citotóxica e antiproliferativa pelo teste *Allium cepa*, identificou que os extratos de calabura inibirão a divisão celular das células vegetais, podendo ser considerado um ótimo agente antiproliferativo.

5. Referências bibliográficas

- AOAC. (1990). AOAC: Official Methods of Analysis. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International*, (20 ed.).
- Babova, O., Occhipinti, A., Capuzzo, A., & Maffei, M. E. (2016). Extraction of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) antioxidants using supercritical/subcritical CO₂ and ethanol

- as co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 358–363. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.029>
- Bagatini, M. D., Fachinetto, J. M., Da Silva, A. C. F., & Tedesco, S. B. (2009). Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19(2 B), 632–636. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400022>
- Barrales, F. M., Rezende, C. A., & Martínez, J. (2015). Supercritical CO₂ extraction of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) seed oil assisted by ultrasound. *The Journal of Supercritical Fluids*, 104, 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.06.006>
- Ben Mohamed, H., Duba, K. S., Fiori, L., Abdelgawed, H., Tlili, I., Tounekti, T., & Zrig, A. (2016). Bioactive compounds and antioxidant activities of different grape (*Vitis vinifera* L.) seed oils extracted by supercritical CO₂ and organic solvent. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 557–562. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.023>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Chen, M.-L., Yang, D.-J., & Liu, S.-C. (2011). Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peels. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(6), 1179–1185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02605.x>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. *Food*

Chemistry, 219, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122>

Kaneda, N., Pezzuto, J. M., Doel Soejarto, D., Douglas Kinghorn, A., Farnsworth, N. R., Santisuk, T., ... Reutrakul, V. (n.d.). PLANT ANTICANCER AGENTS, XLVIII. NEW CYTOTOXIC FLAVONOIDS FROM *MUNTINGIA CALABURA* ROOTS*2. *Journal of Natural Products*, 54(I), 196–206. Retrieved from <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/np50073a019>

Kong, Y., Fu, Y.-J., Zu, Y.-G., Liu, W., Wang, W., Hua, X., & Yang, M. (2009). Ethanol modified supercritical fluid extraction and antioxidant activity of cajanin stilbene acid and pinostrobin from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves. *Food Chemistry*, 117(1), 152–159. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.03.091>

Kraujalis, P., & Venskutonis, P. R. (2013). Supercritical carbon dioxide extraction of squalene and tocopherols from amaranth and assessment of extracts antioxidant activity. *Journal of Supercritical Fluids*. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.04.005>

Kuhn, A. W., Tedesco, M., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Laughinghouse IV, H. D., Tedesco, S. B., ... Tedesco, S. B. (2015). Chromatographic analysis and antiproliferative potential of aqueous extracts of *Punica granatum* fruit peels using the *Allium cepa* test. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(1), 241–248. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000100024>

Mahmood, N. D., Nasir, N. L. M., Ro, M. S., Tohid, S. F. M., Ching, S. M., & Teh, L. K. (2018). *Muntingia calabura* : Uma revisão das suas utilizações tradicionais , as propriedades químicas e farmacológicas observações, 5, 1–47.

Malaman, F. S., Moraes, L. A. B., West, C., Ferreira, N. J., & Oliveira, A. L. (2011). Supercritical fluid extracts from the Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Relationship between the extracted compounds and the characteristic flavour intensity of the fruit. *Food Chemistry*, 124(1), 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.109>

Rodrigo Ramos Catharino, †, Renato Haddad, †, Liliane Giroto Cabrini, †, Ildenize B. S. Cunha, ‡, Alexandra C. H. F. Sawaya, *,† and, & Marcos N. Eberlin*, †.

- (2005). Characterization of Vegetable Oils by Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprinting: Classification, Quality, Adulteration, and Aging. <https://doi.org/10.1021/AC0512507>
- Rotta, E. M., Windson, C., Haminiuk, I., & Maldaner, L. (2017). Original article Determination of antioxidant activity and phenolic compounds of *Muntingia calabura* Linn . peel by HPLC-DAD and UPLC-ESI-MS / MS, 954–963. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13359>
- Santos, D. N. e, Souza, L. L. de, Ferreira, N. J., & Oliveira, A. L. de. (2015). Study of supercritical extraction from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.) with bioactive compounds. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 365–374. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.04.005>
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (50), 81–86. <https://doi.org/10.1021/jf010865b>
- Siqueira, E. M. de A., Rosa, F. R., Fustinoni, A. M., de Sant’Ana, L. P., & Arruda, S. F. (2013). Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. *PLoS ONE*, 8(8), e72826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072826>
- Sufian, A. S., Ramasamy, K., Ahmat, N., Zakaria, Z. A., & Yusof, M. I. M. (2013). Isolation and identification of antibacterial and cytotoxic compounds from the leaves of *Muntingia calabura* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 198–204. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.032>
- Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q. A., & Sun, D. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 706–715. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.09.005>
- Tonin, A. P. P., Ribeiro, M., de Moraes Silva, V., Oliveira, C. C., Saragiotto, M. H., Eberlin, M. N., & Meurer, E. C. (2017). 18-Crown-6 spiking in direct infusion ESI–MS analysis of complex mixtures: “One ion per analyte” relationship

facilitating ion assignments and eliminating isobaric interferences. *International Journal of Mass Spectrometry*, 418, 37–40.
<https://doi.org/10.1016/J.IJMS.2016.12.003>

Trentini, C. P., Santos, K. A., Antonio da Silva, E., Garcia, V. A. dos S., Cardozo-Filho, L., & da Silva, C. (2017). Oil extraction from macauba pulp using compressed propane. *The Journal of Supercritical Fluids*, 126, 72–78.
<https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2017.02.018>

V. L. Singleton, J. A. R., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144>

Zakaria, Z. A., Mohamed, A. M., Hussain, M. K., Sulaiman, M. R., Teh, L. K., Salleh, M. Z., ... Selangor, U. I. (2011). In Vitro Antiproliferative and Antioxidant Activities of the Extracts of *Muntingia calabura* Leaves, 39(1), 183–200.
<https://doi.org/10.1142/S0192415X11008749>

CONCLUSÃO GERAL

Dentre todos os dez modelos estudados para a secagem da casca de calabura, em temperaturas de 40, 50 e 60 °C, o modelo de Logaritmico foi o que melhor se ajustou aos dados de secagem, podendo ser utilizado para representar a cinética de secagem para as cascas.

A energia de ativação foi de 23,96 kJ mol⁻¹, obtida através da equação de Arrhenius que estabelece a dependência da difusividade em relação a temperatura, valor esse bem aceitável e abaixo do encontrado na literatura, provando que a casca tem baixa resistência de difusão. Para o coeficiente de difusão efetivo houve aumento a cada 10 °C da elevação de temperatura do ar de secagem.

Em relação à varredura para encontrar o melhor método de extração, tempo, temperatura, solvente, houve diferença significativa em relação aos tipos de solventes utilizados para os métodos de extração, sendo que, o solvente etanol 50% apresentou as melhores condições para extração de compostos fenólicos e antioxidantes. Em relação ao tempo e temperatura de extração, as faixas de 60 min e 50 °C se sobressaíram as demais. A extração de compostos fenólicos e antioxidante utilizando ondas ultrassônicas com os parâmetros de amostra seca por convecção forçada a 60 °C e liofilização, no tempo e temperatura citado, foi considerada a ideal para as cascas de calabura.

Quando comparado os métodos de extração convencional, assistido por ultrassom e fluido supercrítico, o método utilizando CO₂ apresentou valores para TPC e FRAP superiores as demais extrações, sendo que em comparação com o método ultrassônico a taxa de rendimento foi 28% superior.

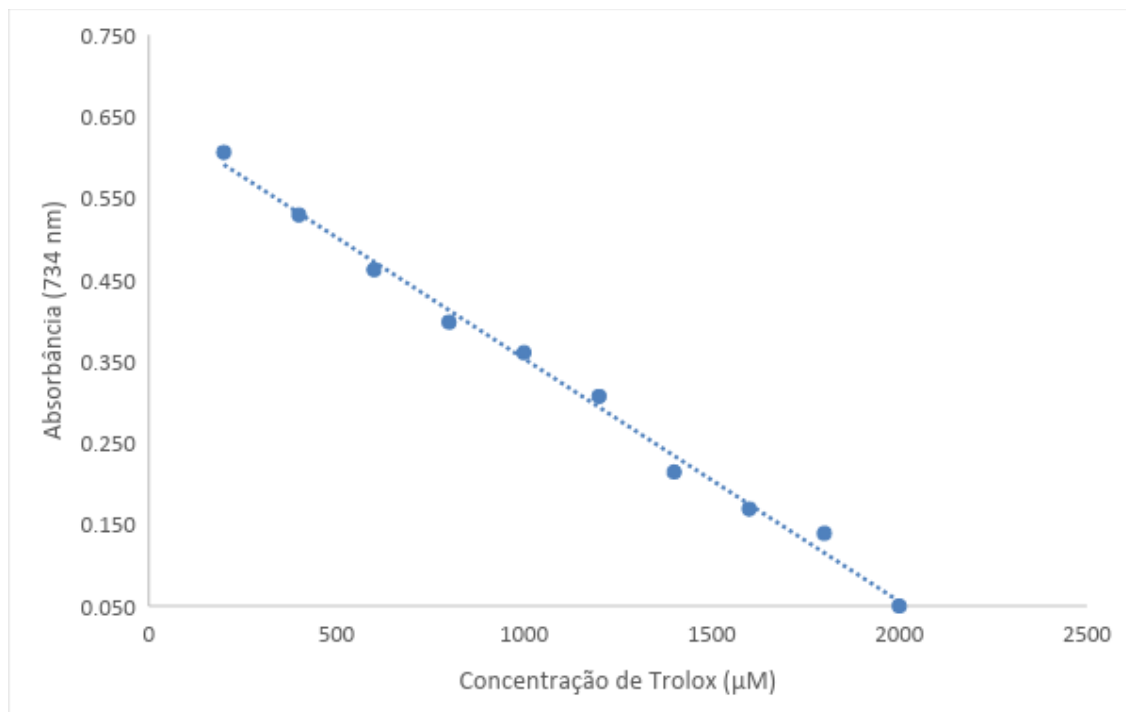
A análise citotóxica e antiproliferativa das cascas de calabura foram valoráveis, sendo que os extratos apresentaram índices de inibição de desenvolvimento celular no Teste *Allium cepa*.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

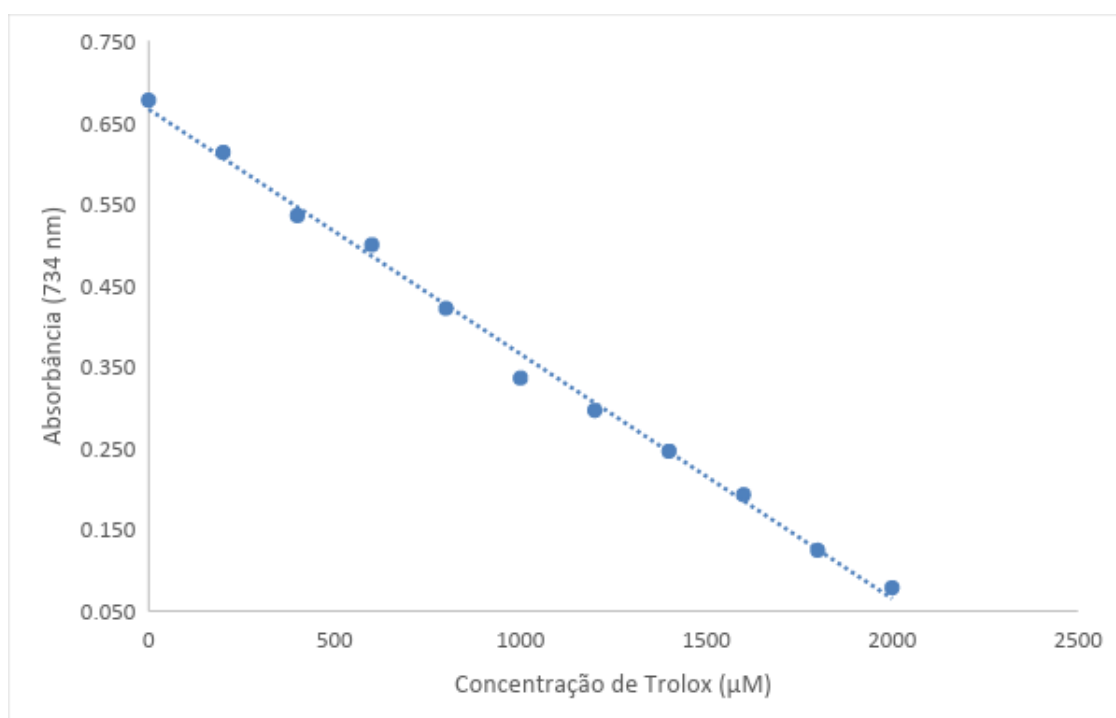
Para continuidade da pesquisa, sugere-se o emprego das cascas de calabura em pesquisas relacionadas a aplicação do material vegetal em alimentos.

APÊNDICE

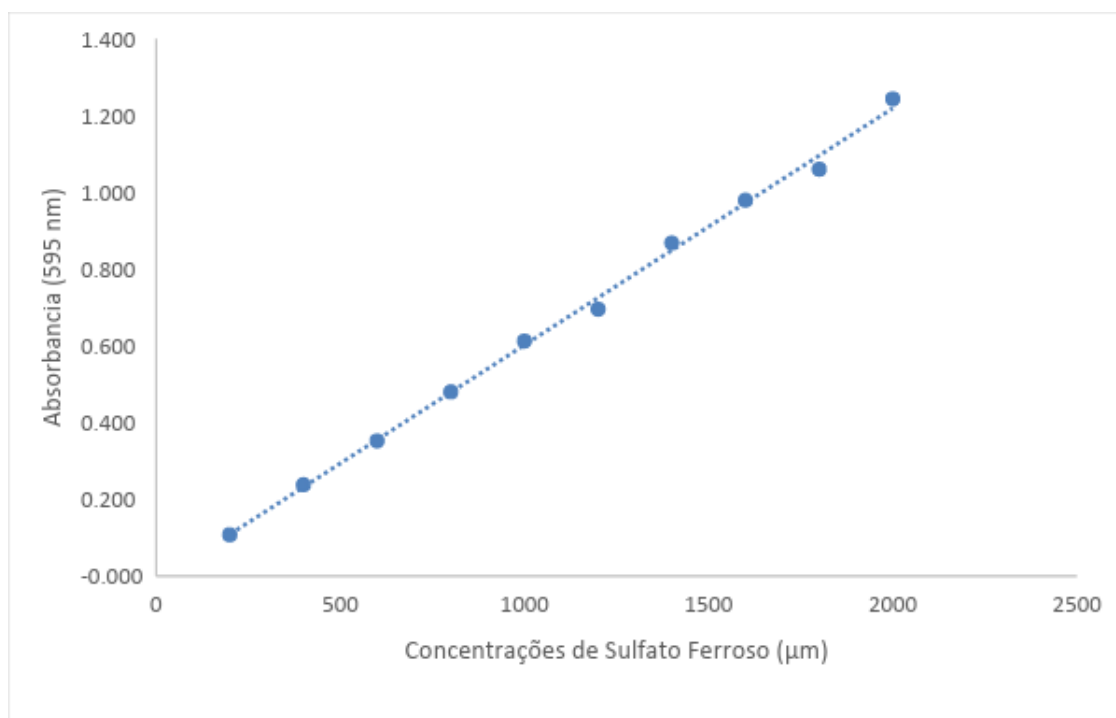
APÊNDICE A – CURVA PADRÃO DE TROLOX PARA ABTS



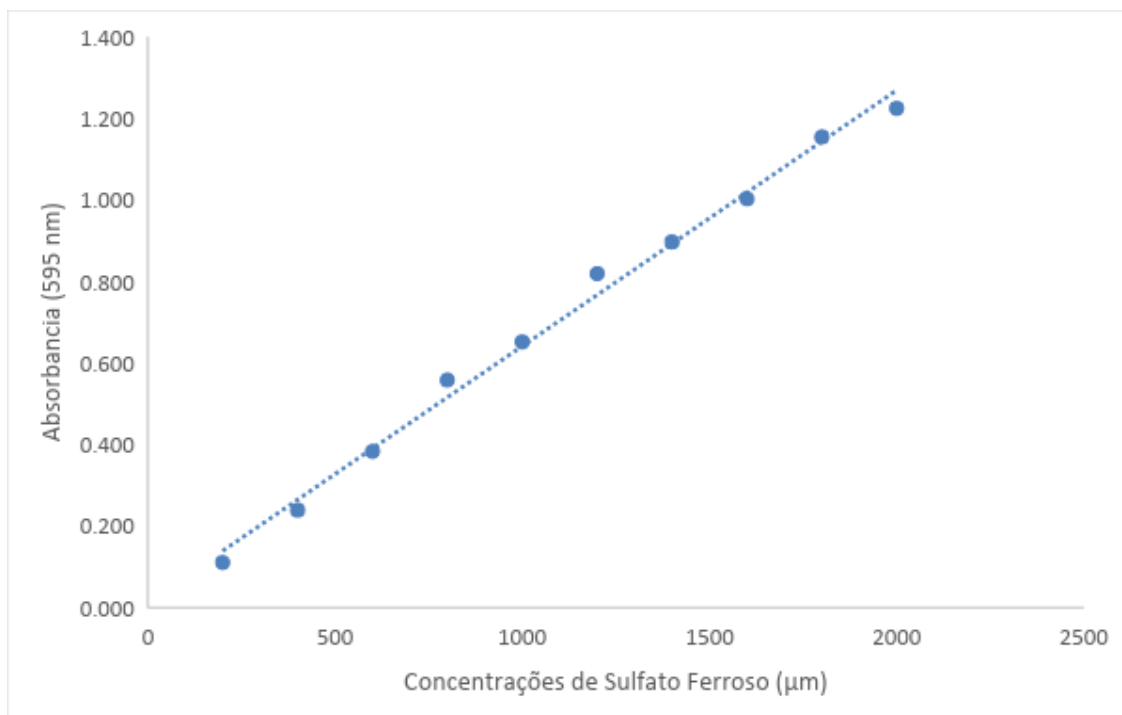
Curva Padrão de Trolox para solução aquosa



Curva Padrão de Trolox para solução etanol 50%

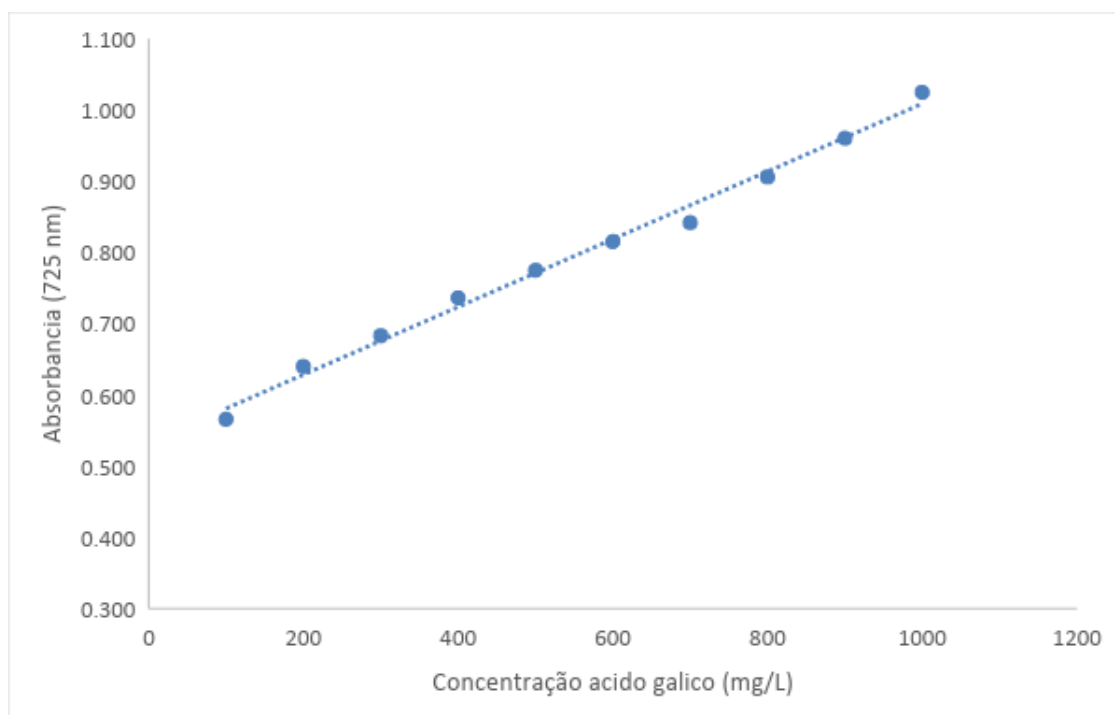
APÊNDICE B – CURVA PADRÃO DE SULFATO FERROSO PARA FRAP

Curva Padrão de Sulfato Ferroso para solução aquosa

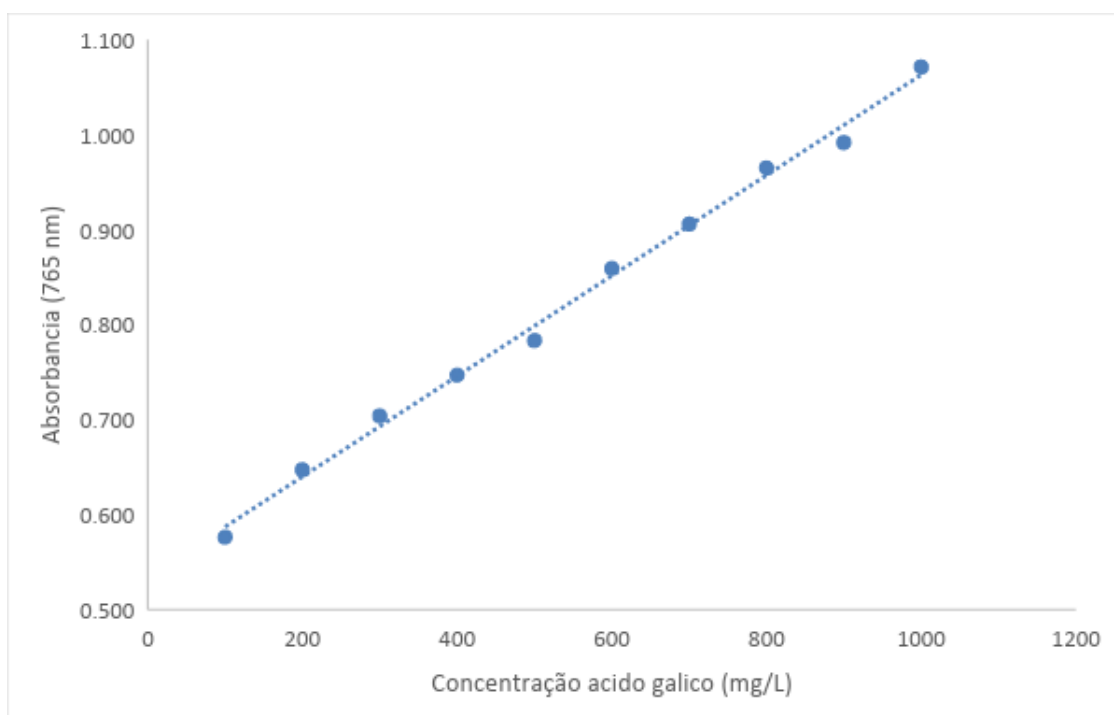


Curva Padrão de Sulfato Ferroso para solução etanol 50%

APÊNDICE C – CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA COMPOSTOS FENÓLICOS



Curva Padrão Compostos Fenólicos para solução aquosa



Curva Padrão Compostos Fenólicos para solução etanol 50%