



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JULIO MANOEL ANDRADE OLIVEIRA

**Extração Assistida por Ultrassom e Micro-ondas dos
Compostos Bioativos do Bagaço e Cascas de Manga
(*Mangifera indica*): Caracterização Química e Avaliação
Antioxidante**

***Ultrasound and Microwave Assisted Extraction of Bioactive
Compounds from Mango Bagasse and Peels (*Mangifera indica*):
Chemical Characterization and Antioxidant Evaluation***





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Extração Assistida por Ultrassom e Micro-ondas dos
Compostos Bioativos do Bagaço e Cascas de Manga
(*Mangifera indica*): Caracterização Química e Avaliação
Antioxidante**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de
Sergipe para a obtenção do título de
Mestre em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Valéria Regina de Souza Moraes

***Ultrasound and Microwave Assisted Extraction of Bioactive
Compounds from Mango Bagasse and Peels (*Mangifera indica*):
Chemical Characterization and Antioxidant Evaluation***

*Dissertation presented to the
Graduate Program in Chemistry at the
Federal University of Sergipe to obtain
Msc. in Chemistry.*



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

O48e Oliveira, Julio Manoel Andrade
Extração assistida por ultrassom e micro-ondas dos compostos bioativos do bagaço e cascas de manga (*Mangifera indica*): caracterização química e avaliação antioxidante / Julio Manoel Andrade Oliveira ; orientadora Valéria Regina de Souza Moraes - São Cristóvão, 2023.
153 f. : il.

Dissertação (mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, 2023.

1. Manga. 2. Extração (Química). 3. Espectrometria de massa. Moraes, Valéria Regina de Souza orient. II. Título.

CDU 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
Programa de Pós-Graduação em Química
PPGQ



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Julio Manoel Andrade Oliveira apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 28/07/2023.

Prof^{da}. Dr^a. Valéria Regina de Souza Moraes
Departamento de Química - UFS

Prof. Dr. Perciles Barreto Alves
Departamento de Química - UFS

Prof^a. Dr^a. Cleide Mara Faria Soares
Universidade Tiradentes

RESUMO

A manga (*Mangifera indica*) é uma fruta mundialmente consumida na forma *in natura*, em sucos, geleias e sorvetes, entretanto, esse processamento gera uma quantidade significativa de resíduos, considerado um problema ambiental. Este trabalho teve como objetivo o estudo do reaproveitamento dos resíduos industriais da manga (bagaço e cascas) através das extrações de seus componentes bioativos empregando técnicas de extrações com solventes ambientalmente amigáveis, como uma forma de direcionarmos este material para outras finalidades mais úteis. As extrações assistidas por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM) foram aplicadas com o objetivo de obter extratos com maiores conteúdos de fenólicos totais e rendimentos, sendo diretamente comparadas com a extração por maceração. A otimização por EAU foi realizada a partir da utilização da metodologia de superfície de resposta (RSM), onde resultou na condição ótima de extração utilizando a concentração de etanol de 58,280%, relação solvente para soluto de 7,929 mL para 0,2 g, tempo de 5 min, frequência de 37 kHz, temperatura de 40 °C e 30% de potência. A condição ótima da EAM, obtida por RSM, foi concentração de etanol de 48,980%, tempo de 11 minutos e 6 s, relação solvente para soluto de 16 mL para 0,2 g, com temperatura de 84 °C e potência de 500W. Nestas condições, o rendimento obtido para o extrato do bagaço da manga por EAU foi de 38,07% e o conteúdo de fenólicos totais (TPC) foi de 101,63 mg EAG/g ms (miligrama de Equivalente de Ácido Gálico por grama de material seco), valores maiores do que para os extratos das cascas de manga (36,07% e 92,95 mg EAG/g ms). O extrato EAM do bagaço resultou no rendimento de 48,01% e TPC de 124,96 mg EAG/g ms, e para as cascas foram de 38,86% e 102,16 mg EAG/g ms, respectivamente. Os extratos obtidos por EAM apresentam maiores valores de rendimentos, TPC e TFC em comparação com os extratos EAU. Os ensaios antioxidantes demonstraram que os extratos obtidos por EAM apresentaram maiores potenciais de inibição em relação aos de EAU. Através da Espectrometria de Massas foi possível propor 39 marcadores químicos nos extratos do bagaço e 26 para as cascas.

Palavras-chave: Manga; Extração Assistida por Ultrassom; Extração Assistida por Micro-ondas; Espectrometria de Massas; Atividades Antioxidantes.

ABSTRACT

Mango (Mangifera indica) is a fruit worldwide consumed in natura, in juices, jellies and ice cream. However, its processing generates a significant amount of waste, considered an environmental problem. This work aimed to study the reuse of industrial mango waste (bagasse and peel) through the extraction of its bioactive components using extraction techniques with environmentally friendly solvents, as a way of directing this material to other more useful purposes. Ultrasound-assisted extraction (UAE) and Microwave-assisted extraction (MAE) were applied in order to obtain extracts with higher biological activities and yields, being directly compared with maceration extraction. Identification of bioactive compounds was performed using high-resolution mass spectrometry, followed by antioxidant activities. The optimization by EAU was carried out using the response surface methodology (RSM), which resulted in the optimal extraction condition using an ethanol concentration of 58.28%, solvent to solute ratio of 7.929 mL to 0.2 g, time of 5 min, frequency of 37 kHz, temperature of 40 °C and 30% power. The optimal EAM condition, obtained by RSM, was ethanol concentration of 48.981%, time of 11 minutes and 6 s, solvent to solute ratio of 16 mL to 0.2 g, temperature of 84 °C and power of 500W. Under these conditions, the yield obtained for the mango bagasse extract by UAE was 38.07% and the total phenolic content (TPC) was 101.63 mg EAG/g dw, values greater than those for the peel extracts of mango (36.07% and 92.95 mg EAG/g dw). The MAE extract from the bagasse resulted in a yield of 48.01% and TPC of 124.96 mg EAG/g dw, and for the peels they were 38.86% and 102.16 mg EAG/g dw, respectively. The extracts obtained by MAE showed higher values of yields, TPC and TFC compared to the UAE extracts. Antioxidant assays demonstrated that MAE extracts showed greater inhibition potentials compared to UAE extracts. In this work it was possible, by using Mass Spectrometry, to propose 39 chemical markers in the bagasse extracts and 28 for the peels extracts.

Keywords: Mango; Ultrasound Assisted Extraction; Microwave Assisted Extraction; Mass Spectrometry; Antioxidant Activities.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Revisão da Literatura	3
1.1.1	Resíduos Industriais de Frutas.....	4
1.1.2	Manga (Mangifera indica).....	12
1.1.3	Extrações Assistidas por Ultrassom (EAU) e Micro-ondas (EAM).....	23
1.1.3.1	Extração Assistida por Ultrassom (EAU).....	23
1.1.3.2	Extração Assistida por Micro-ondas (EAM).....	25
1.1.3	Extração de Componentes Bioativos por EAU e EAM.....	27
2	OBJETIVOS.....	33
2.1	Geral	33
2.2	Específicos.....	33
3	MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1	Materiais e Equipamentos.....	34
3.2	Resíduo Industrial de Manga	35
3.3	Preparação dos Extratos.....	36
3.3.1	Extração por Maceração (MC).....	36
3.3.2	Extração Assistida por Ultrassom (EAU).....	37
3.3.2.1	Planejamento experimental de fator único.....	37
3.3.2.2	Metodologia de Superfície de Resposta.....	39
3.3.3	Extração Assistida por Micro-ondas (EAM).....	40
3.3.3.1	Metodologia de Superfície de Respostas.....	41
3.3.4	Validação do procedimento de extração por EAU e EAM.....	42
3.3.5	Rendimento de Extração.....	43
3.4	Preparação das Amostras.....	43
3.5	Avaliação Fitoquímica	44
3.5.1	Avaliação do Conteúdo de Fenólicos Totais.....	44
3.5.2	Avaliação do Conteúdo de Flavonoides Totais.....	44
3.5.3	Avaliação Antioxidante.....	45
3.4.2.1	Método do radical DPPH•.....	45
3.4.2.2	Método do radical ABTS•+.....	45
3.4.2.3	Método do FRAP.....	46
3.6	Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS, do inglês: <i>High Resolution Mass Spectrometry</i>).....	47
4	RESULTADOS E JUSTIFICATIVAS.....	48
4.1	Métodos de Extração	48
4.1.1	Extração Assistida por Ultrassom.....	48
4.1.1.1	Otimização Assistida por Ultrassom no Bagaço de Manga.....	49
4.1.2	Extração Assistida por Micro-ondas.....	61
4.1.2.1	Otimização Assistida por Micro-ondas no Bagaço de Manga....	61
4.1.3	Comparação entre Métodos de Extração.....	69

4.1.3.1	Comparação entre EAU e Maceração.....	69
4.1.3.2	Comparação entre EAM e Maceração.....	72
4.1.3.3	Comparação entre EAU e EAM.....	75
4.2	Avaliação Fitoquímica	77
4.2.1	Avaliação do Conteúdo de Flavonoides Totais.....	77
4.2.2	Avaliação Antioxidante.....	80
4.3	Identificação por Espectrometria de Massas	86
5	CONCLUSÕES	99
6	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	101
7	REFERÊNCIAS.....	102
	APÊNDICE.....	115

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a Deus, por todas a sabedoria que me concedeu e forças necessárias para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Elenilde e Manoel, a minha irmã (Jéssica), a minha sobrinha (Ellen), aos meus familiares e amigos por todo o apoio, companheirismo, compreensão, conselhos e momentos durante esta jornada. Obrigado a todos.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Sergipe (UFS), onde por meio do Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ) e do Departamento de Química (DQI) proporcionaram a oportunidade de desenvolver este trabalho.

A Prof^a Dr^a Valéria Regina de Souza Moraes, pela oportunidade em tê-la como minha mentora e exemplo de profissional, compartilhando seus conhecimentos, confiança e apoio.

Ao Dr. Raphael Amancio de Jesus, pela contribuição e companheirismo durante o desenvolvimento deste trabalho, compartilhando seus conhecimentos e momentos durante a pesquisa.

Aos órgãos de fomento à pesquisa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), FAPITEC/SE e CNPq.

A Pomar do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos, na pessoa da funcionária Camila Maria de Lima Santos, por fornecer os resíduos industriais do bagaço e cascas de manga.

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar de Lima Nogueira, por compartilhar seus conhecimentos e apoio ao projeto com as suas contribuições.

Ao Prof. Dr. Sandro Navickiene, por compartilhar seu conhecimento, principalmente cromatográfico.

A Prof^a Dr^a. Zaine Teixeira Camargo, pela disponibilidade do seu equipamento para a extração permitindo a execução de várias etapas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank, pela disponibilidade do seu equipamento de extração.

Ao Ms. Pedro Ellison Santos do Nascimento, por compartilhar seus conhecimentos e contribuições para este trabalho.

Ao Ms. Daniel Alves de Souza, pelas análises antioxidantes.

A Prof^o Dr^a Elma Regina Silva de Andrade Wartha do Departamento de Nutrição da UFS, pelas análises antioxidantes.

Ao CLQM (Centro de Laboratórios de Química Multiusuários) da Universidade Federal de Sergipe pelo suporte as análises.

A Dr^a. Roberta Menezes Santos, por auxiliar durante as análises no espectrômetro de massas e nos equipamentos do CLQM.

Aos membros da banca examinadora, pela atenção, sugestões e observações a este trabalho.

A todos os Professores do PPGQ (DQI-UFS).

Aos meus amigos e companheiros do grupo LABORGANICS que sempre me ajudaram, seja pessoalmente ou profissionalmente, Mariana, Michael, Maria Andréa e em especial ao Raphael, que sempre esteve ao meu lado como coorientador.

Aos meus amigos Graciele, Vilma, Lanna, Rute, Rhayza, Mirele, Miliana, Hermogenes, Francielly, Kelvin, Larissa Martins, Larissa Tavares, Pablo Rodrigo, Thalles, Eluíza, Lucas, Jamille, Elias, Julio Cesar, Francisco, Mércia, Weverton, Jhonatas, Tony, Vanderson e a todos os amigos que fiz amizade na UFS, que me acompanham desde a graduação e durante a pós, agradeço pela amizade e momentos de descontração.

Aos funcionários e servidores do DQI e PPGQ pelos excelentes trabalhos prestados.

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”
(Antoine-Laurent de Lavoisier)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- %EtOH – Concentração de etanol em água
- ABTS – 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
- ACN – Acetonitrila
- AP – Ácido punicico
- BBD – *Box–Behnken Design*
- BM – Bagaço de manga
- CCD – *Central Composite Design*
- CCRD – Design rotativo composto central
- CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência
- CL-DAD – Cromatógrafo líquido acoplado ao detector de arranjo de diodos
- CL-EM – Cromatógrafo líquido acoplado ao detector de massas
- CM – Casca de manga
- DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
- EA. Hy926 – Células endoteliais humanas
- EAM – Extração assistida por micro-ondas
- EAU – Extração assistida por ultrassom
- EBAa – Extração por banho de água com agitação

- EM – Extração por maceração
- FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*
- HRMC – *High Resolution Mass Spectrometry*
- MeOH – Metanol
- MAE – *Microwave Assisted-Extraction*
- MC – Maceração
- mg EAG/g ms – miligrama de equivalente de ácido gálico por grama de material seco
- mg EC/g ms – miligrama de equivalente de catequina por grama de material seco
- PU – Punicalagina
- RSM – *Response Surface Methodology*
- SC-CO₂ – Extração supercrítica com CO₂
- S/S – Relação solvente para soluto
- TFC – *Total Flavonoids Content*
- TPC – *Total Phenolic Content*
- UAE – *Ultrasound Assisted-Extraction*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da mangiferina.

Figura 2 – Estruturas químicas dos compostos identificados em resíduos de frutas.

Figura 3 – Estrutura química dos compostos presentes nas partes da fruta manga relatados na literatura.

Figura 4 – Estruturas químicas dos compostos presentes no bagaço de manga.

Figura 5 – Colapso das bolhas de cavitação nas partes aéreas do manjeriço-de-folha-larga (*Ocimum basilicum* L.) para a extração do óleo essencial [10].

Figura 6 – Possível esquema da extração da extração assistida por micro-ondas, adaptado de Vinatoru *et al.* [9].

Figura 7 – Estruturas químicas dos compostos presentes nos extratos obtidos por EAU e EAM.

Figura 8 – Foto dos resíduos do bagaço **(A)** e das cascas **(B)** da manga obtidos pela Pomar®.

Figura 9 – Sequência do procedimento das extrações por ultrassom, realizados por meio do planejamento experimental de fator único com as variáveis: concentração de etanol em água (10, 30, 50, 70 e 90%), relação solvente para soluto (5:0,2, 10:0,2, 15:0,2, 20:0,2 e 25:0,2 mL/g), tempo de extração (5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos), frequência (37 e 80 kHz), temperatura (30, 40, 50, 60 e 70 °C) e potência (30, 60, 70, 80, 90 e 100%).

Figura 10 – Gráficos em coluna dos rendimentos da extração assistida por ultrassom do bagaço da manga para cada variável independente: concentração de etanol em água (%EtOH), relação solvente para soluto (S/S, mL/g), tempo de extração (min), frequência (kHz), temperatura (°C) e potência (%).

Figura 11 – Gráfico em coluna dos conteúdos de fenólicos totais (TPC) dos extratos de bagaço de manga obtidos por EAU para cada variável independente: concentração de etanol em água (%EtOH), relação solvente para soluto (S/S, mL/g), tempo de extração (min), frequência (kHz), temperatura (°C) e potência (%).

Figura 12 – Gráfico em coluna do bagaço de manga do rendimento (A) e respostas do conteúdo de fenólicos totais (B) dos experimentos do planejamento composto central, segundo a Tabela 2.

Figura 13 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados estimados das variáveis concentração de etanol (A) e a relação solvente para soluto (B) no conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) dos extratos do bagaço da manga obtidos por EAU.

Figura 14 – Gráfico de superfície de resposta dos efeitos da relação solvente soluto (S/S) e concentração de etanol em água (%EtOH) no conteúdo fenólicos totais (TPC) dos extratos do bagaço da manga por EAU.

Figura 15 – Gráficos em coluna dos rendimentos (A) e do conteúdo de fenólicos totais (B) da EAM do bagaço (BM) e cascas (CM) de manga.

Figura 16 – Gráficos em coluna dos rendimentos (A) e do conteúdo de fenólicos totais (B) da extração assistida por micro-ondas do bagaço de manga dos 17 pontos experimentais obtidos pelo planejamento CCD empregando as variáveis: concentração de etanol em água (%EtOH), relação solvente para soluto (S/S, mL/g) e tempo de extração (min), segundo a Tabela 4.

Figura 17 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados estimados das variáveis concentração de etanol (A), relação solvente para soluto (B) e tempo de extração (C) no conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) dos extratos do bagaço da manga obtidos por EAM.

Figura 18 – Gráfico de superfície de resposta dos efeitos do conteúdo fenólicos totais (TPC) *versus* %EtOH *versus* S/S (A), %EtOH *versus* Tempo (min) (B) e S/S *versus* Tempo (min) (C) dos extratos do bagaço da manga por

EAU (%EtOH: concentração de etanol em água e S/S: relação solvente para soluto).

Figura 19 – Gráficos em coluna dos rendimentos (A) e do conteúdo de fenólicos totais (B) da EAM do bagaço (BM) e cascas (CM) de manga.

Figura 20 – Gráfico em coluna do rendimento (%) (A) e do conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) (B) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAU e pela extração por maceração nos tempos de 5 minutos, 1 hora e 24 horas.

Figura 21 – Gráfico em coluna do rendimento (%) (A) e do conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) (B) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAM e pela extração por maceração nos tempos de 11 minutos e 24 horas.

Figura 22 – Gráfico em coluna do rendimento (%) (A) e do conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) (B) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAU e EAM.

Figura 23 – Gráfico em coluna do conteúdo de flavonoides totais (mg EC/g ms) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAU, EAM e pela extração por maceração (MC).

Figura 24 – Gráfico de coluna do percentual de inibição (%Inibição) dos testes DPPH• e ABTS•+ dos extratos de bagaço e cascas de manga por EAU, EAM e MC, condição ótima de extração obtida por ultrassom (U) e por micro-ondas (M).

Figura 25 – Determinação da atividade antioxidante dos extratos de bagaço de manga por FRAP.

Figura 26 – Espectros de massas dos extratos do bagaço (A e B) e cascas de manga (C e D)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores das variáveis independentes usadas no planejamento composto central na EAU do resíduo do bagaço da manga.

Tabela 2: Pontos experimentais dos procedimentos realizados no bagaço de manga.

Tabela 3: Valores das variáveis independentes usadas no planejamento composto central na EAM do resíduo do bagaço de manga.

Tabela 4: Pontos experimentais dos procedimentos realizados no bagaço de manga.

Tabela 5: Percentual de massa dos resíduos após a trituração e peneiração.

Tabela 6: Análise de variância (ANOVA) para o modelo polinomial quadrático proposto para a resposta do conteúdo de fenólicos totais obtido por EAU para o resíduo de bagaço de manga. Os efeitos significativos ($p < 0,05$) estão marcados com asterisco (*).

Tabela 7: Análise de variância (ANOVA) para o modelo polinomial quadrático proposto para a resposta do conteúdo de fenólicos totais obtido por EAU para o resíduo de bagaço de manga. Os efeitos significativos ($p < 0,05$) estão marcados com asterisco (*).

Tabela 8: Valores das atividades antioxidantes dos extratos de bagaço e cascas de manga obtidos pelas extrações assistidas por ultrassom e por micro-ondas.

Tabela 9: Marcadores químicos presentes nos extratos do resíduo de bagaço de manga obtido pelos métodos de maceração (MC), extração assistida por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM).

Tabela 10: Marcadores químicos presentes nos extratos do resíduo de cascas de manga obtido pelos métodos de maceração (MC), extração assistida por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM).

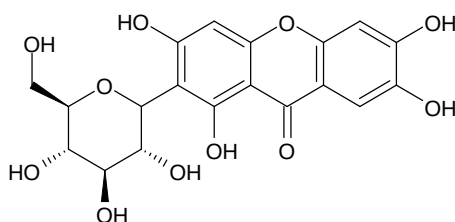
1 INTRODUÇÃO

Os resíduos industriais de frutas geram preocupação na sociedade devido ao seu descarte inapropriado, pois gera grandes problemas ambientais e de saúde pública. Estes resíduos são gerados a partir do consumo da fruta *in natura* e/ou dos seus processados industriais (néctar e sucos), sendo as cascas, bagaços, caroços e/ou sementes os mais comuns. No entanto, os resíduos continuam sendo fontes de compostos bioativos que apresentam efetividade no tratamento de enfermidades e aplicações na indústria [1-3]. Dentre os compostos presentes nos resíduos de frutas, os que apresentam mais relatos na literatura são os derivados fenólicos, como as flavanonas, flavonas e ácidos fenólicos que apresentam ação antioxidante [4].

Mesmo diante da importância e da grande quantidade de compostos altamente ativos que são encontrados em diferentes resíduos, há poucas publicações sobre a exploração desses resíduos de frutas comerciais que são encontrados em todo o planeta e que são produzidos em larga escala [5].

A manga (*Mangifera indica*) é uma fruta mundialmente conhecida e consumida, principalmente *in natura*, na forma de suco, sorvetes, geleias, entre outros produtos, tendo sua produção ultrapassando 30 milhões de toneladas ao ano em todo o planeta. Por isso, os subprodutos que são descartados pela indústria como cascas, sementes e bagaço têm ganhado destaque no reaproveitamento dos seus constituintes químicos [6]. Este interesse ocorre pelo alto potencial biológico ainda presente neste material podendo apresentar compostos que podem ser utilizados para compor um medicamento para prevenir e tratar diversas enfermidades. Um destes compostos de grande interesse é a mangiferina (1), uma xantona C-glicosilada que apresenta ação analgésica, antidiabética e antiviral [7, 8].

Figura 1 – Estrutura química da mangiferina.



(1) Mangiferina

A mangiferina (1), assim como outros compostos encontrados nestes resíduos fazem parte do grupo de metabólitos secundários que auxiliam nos mecanismos de defesa e desenvolvimento das plantas. Juntamente com os derivados fenólicos, os terpenos também são encontrados majoritariamente nestas matrizes naturais, ambos considerados compostos de grande importância para a sociedade por apresentarem atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, entre outras. Como consequência destas habilidades biológicas estes derivados são, muitas vezes, utilizados nas indústrias de cosméticos e alimentícias [9].

Para a extração dos compostos bioativos a partir destas matrizes vegetais pode-se utilizar várias técnicas de extrações, tais como infusão, maceração e extração por Soxhlet, conhecidas como técnicas clássicas. Mais recentemente, técnicas ambientalmente mais amigáveis como extração assistida por Micro-ondas e extração assistida por Ultrassom são cada vez mais comuns em estudos na área de produtos naturais. A extração assistida por ultrassom (EAU) é uma técnica que utiliza de ondas sonoras para formar bolhas de cavitação sobre o material vegetal, onde ao eclodir irão danificar a parede celular e com isso liberar os compostos do material vegetal. Na extração assistida por micro-ondas (EAM), o processo de extração ocorre pela movimentação das moléculas presentes na matriz vegetal e no solvente, através das radiações eletromagnéticas de micro-ondas. A EAU e EAM são técnicas que possibilitam a obtenção dos compostos bioativos em poucos minutos e com altos rendimentos, em comparação as técnicas clássicas de extração [10-12].

A espectrometria de massas (EM) é uma técnica que consiste na geração de íons moleculares, onde as substâncias são analisadas através da razão

massa/carga (m/z) das moléculas ionizadas pela fonte de ionização disponível. Nas últimas décadas é uma das técnicas mais empregadas para identificação metabólitos secundários de plantas e outras matrizes naturais, devido a sua alta eficiência na determinação destes constituintes mesmo em matrizes complexas. Dentre os diversos métodos, a espectrometria de massas de alta resolução (*High Resolution Mass Spectrometry* – HRMS) permite a obtenção de resultados mais precisos sobre a relação m/z dos íons moleculares garantindo uma análise em um menor tempo. O HRMS é constituído por analisadores de massas mais robustos, sendo o orbitrap um dos quais permite o melhoramento na resolução e com isso melhora a qualidade dos espectros obtidos em cada análise [13, 14].

Com o objetivo de agregar valor ao resíduo de manga proveniente de uma indústria alimentícia (Pomar ®), este trabalho tem como objetivo a extração dos componentes bioativos presentes no bagaço e nas cascas da manga, utilizando três métodos de extração, a maceração, EAU e EAM. Primeiramente foi realizada as otimizações da extração por ultrassom e micro-ondas, a partir do bagaço da manga, onde foi empregado o planejamento experimental com o auxílio do planejamento composto central (do inglês: *Central Composite Design* – CCD). A caracterização química dos extratos foi realizada através da injeção direta no espectrômetro de massas de alta resolução (*Ultra-High Resolution Mass Spectrometry- FT-Orbitrap MS*) e as avaliações antioxidantes foram feitas por meio dos testes radiculares do DPPH, FRAP e ABTS, ao mesmo tempo em que foram avaliados seus teores de fenólicos totais e de flavonoides totais.

1.1 REVISÃO DA LITERATURA

A produção de resíduos de frutas é um problema ambiental e de saúde pública para a população, fato que motiva pesquisas que visam o reaproveitamento desses resíduos. Dentre essas formas de reaproveitamento, temos a extração de componentes químicos dos resíduos, os quais podem apresentar atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e outras ações biológicas.

Nesta revisão, temos como intuito demonstrar os potenciais biológicos dos extratos de vários resíduos de frutas e as técnicas de extrações que são utilizadas para extraí-los em maiores quantidades.

1.1.1 Resíduos Industriais de Fruta

No mundo contemporâneo observamos um aumento na preocupação com o planeta e com a sobrevivência da humanidade. Por causa disso muitas conferências têm sido organizadas entre representantes de diversos países para encontrar e difundir soluções que possam diminuir/encerrar os impactos causados pela poluição, perda da biodiversidade e eventos climáticos extremos.

A agricultura e a agroindústria são setores de grande importância econômica e de desenvolvimento para diversos países, movimentando milhões de dólares todos os anos e contribuindo para o abastecimento das populações [1]. No Brasil, em 2019 foram exportadas quase 1 bilhão de frutas, sendo as mangas, melões e mamões os que foram mais exportados. Neste mesmo ano, o Ministério da Agricultura apresentou projeções de que as produções de frutas dobrem em 10 anos, tornando preocupante o aumento da geração de resíduos de frutas, sendo que cerca de 15% das frutas são perdidas nas cadeias produtivas [15, 16].

As frutas são produzidas em larga escala e são consumidas in natura e/ou como seus processados industriais (sucos, sorvete, néctar e geleias). Esse consumo contribui para a geração de resíduos de cascas, sementes, folhas, flores, caules, polpas e bagaços de origem doméstico e industrial, os quais são descartados, principalmente, em lixões e aterros sanitários [1]. Outro fator que contribui para a grande produção de resíduos de frutas são as perdas por infecções, já que durante o armazenamento e transporte as frutas podem desenvolver doenças, o que corresponde a cerca de 50% na indústria. Além disso, as frutas possuem curta vida útil e são suscetíveis a deterioração, rápido amadurecimento e amolecimento [17].

Os resíduos industriais de frutas são geradores de poluição ambiental, seja pelo seu acúmulo, como também pela sua biodegradação que afeta o solo, o ar e o lençol freático, principalmente devido a formação do chorume e do dióxido de carbono [2, 3, 18]. Para termos uma ideia, aproximadamente 15 milhões de toneladas de resíduos cítricos e 36 milhões de toneladas de cascas de banana são geradas todos os anos no mundo [3].

Nos resíduos ainda é possível encontrar compostos orgânicos bioativos, os quais possuem ampla aplicação nas indústrias farmacêutica e alimentícia. Como exemplo temos o caso dos resíduos das cascas de tomates, bananas, romã e frutas cítricas, os quais são ricos em compostos que possuem alto valor nutricional e são utilizados em suplementos, aditivos, cosméticos, aromatizantes e corantes [3, 19-21]. Além disso, alguns resíduos também são utilizados na obtenção de biocombustíveis como o biometano, biohidrogênio, biodiesel, bioetanol e biobutanol, obtidos dos resíduos do bagaço de cana-de-açúcar, cascas de banana, café, maçã e frutas cítricas. Também podem ser utilizados para produzir bioplásticos e biopolímeros, que podem ser comestíveis e/ou biodegradáveis, como as sacolas de supermercado e as bandejas de alimentos, auxiliando em outra cadeia de resíduos ainda mais preocupante que é a dos plásticos [3, 22, 23].

Os componentes fitoquímicos ainda presentes nos resíduos industriais compreendem os metabólitos secundários, lipídios, proteínas e carboidratos, os quais possuem ampla atividade biológica comprovada. Os polissacarídeos, por exemplo, apresentam atividades anti-inflamatórias e anticancerígenas enquanto os derivados fenólicos, pectinas, antocianinas e flavonoides apresentam ação antioxidante. Estes e outros componentes disponíveis nos resíduos apresentam, ainda, propriedades que auxiliam na imunidade e no controle da ansiedade, evitam e/ou tratam diabetes, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares [3, 19, 20].

Para se ter acesso a estes compostos bioativos diversas técnicas de extração podem ser utilizadas, desde as consideradas mais clássicas como a infusão, decocção, maceração, hidrodestilação e extração por Soxhlet, como também aquelas consideradas mais modernas como a extração por fluido supercrítico e as extrações assistidas por micro-ondas e ultrassom [24].

No extrato do bagaço de açaí (*Euterpe oleracea*), obtido através da extração supercrítica com CO₂ (SC-CO₂), foram determinados a presença de antocianinas, componentes fenólicos e lipídios, sendo estes ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados [25]. No extrato de resíduo de groselha negra (*Ribes nigrum* L.) obtido por SC-CO₂ foram identificados o β-

cariofileno (2) e germacreno (3) [26], enquanto que no extrato de bagaço de amora-preta (*Rubus* sp.) foram determinadas antocianinas, os compostos majoritários sendo a 3-O-glicosídeo-cianidina (4) e a 3-O-rutinosídeo-cianidina (5) e os minoritários a 3-O-(6"-dioxalil-glicosídeo)-cianidina (6) e a 3-O-(6"-malonil-glicosídeo)-cianidina (7), sendo que neste último caso a extração foi realizada com SC-CO₂ acoplado ao ultrassom [27].

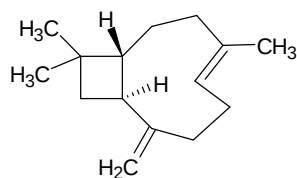
Em frutas cítricas são encontrados compostos com ação antioxidante, principalmente de derivados fenólicos, como as flavanonas hesperidina (8) e naringina (9); a flavona polimetoxilada tangeretina (10) e ácidos fenólicos como o ácido ferúlico (11), cafeico (12), sinápico (13) e *p*-cumárico (14) [4]. A partir dos extratos metanólicos das cascas de *Citrus sinensis* (nome popular: laranja doce) foram encontrados o ácido cafeico (12), ácido *p*-cumárico (14), naringina (9), canferol (15), neohesperidina (16) e rutina (17) [28].

A punicalagina (PU) (18) e o ácido punicico (AP) (19), que possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatória foram extraídos, respectivamente, das cascas e sementes de romã (*Punica granatum*) através da extração supercrítica com CO₂, otimizado com o Box-Behnken Design (BBD). Foi determinado que as condições ótimas foram 399 bar, 48 °C e 19,9% de etanol para as cascas, resultando em um teor de PU de 0,4 a 9,5%; nas sementes as condições foram de 450 bar, 48 °C e 10% de etanol e um teor de AP de 65,1–78,4% [29].

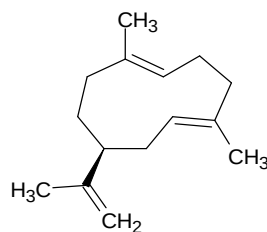
Utilizando a extração assistida por ultrassom, Moo-Huchin *et al.* identificaram a miricetina (20) e os ácidos ferúlico (11), sinápico (13), cafeico (12), gálico (21) e elágico (22), em um procedimento que durou apenas 30 minutos [30]. Uma extração sólido-líquido foi realizada na casca de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril.) e foram identificados nove compostos, sendo eles o ácido gálico (21), hidroxitirosol (23), ácido clorogênico (24), ácido diidroxicaféico (25), miricetina (20), ácido cafeico (12), ácido *p*-cumárico (14), ácido ferúlico (11) e ácido isoferúlico (26). Um “design” rotativo composto central (CCRD) e metodologia de superfície de resposta (RSM, do inglês: *Response Surface Methodology*) foram aplicados e a condição ótima de extração foi a proporção de solvente:soluto de 1:1 por 25 minutos em temperatura ambiente,

utilizando etanol e água (80–20%) como solvente de extração [21]. Os compostos fenólicos citados, possuem altas atividades antioxidantes comprovadas e são amplamente utilizadas nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

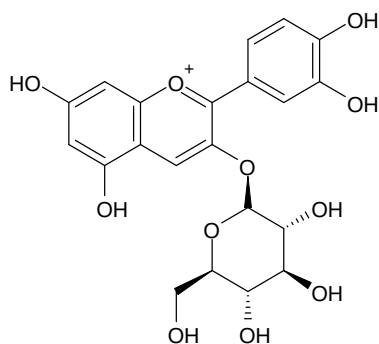
Figura 2 – Estruturas químicas dos compostos identificados em resíduos de frutas.



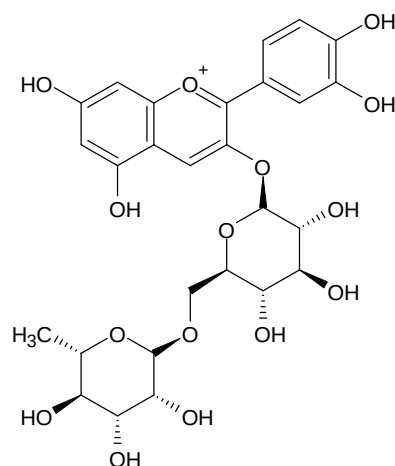
(2) β -cariofileno



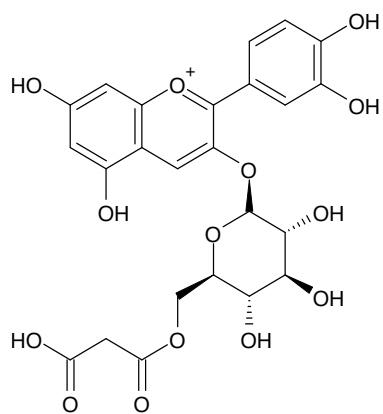
(3) Germacreno



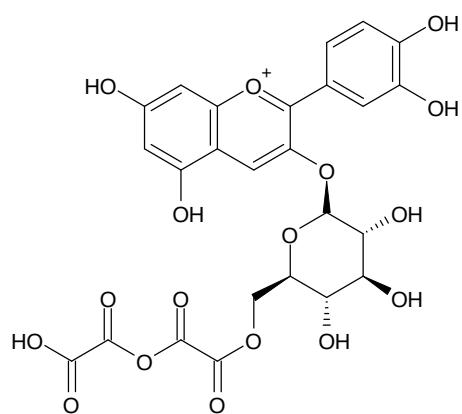
(4) 3-O-glicosídeo-cianidina



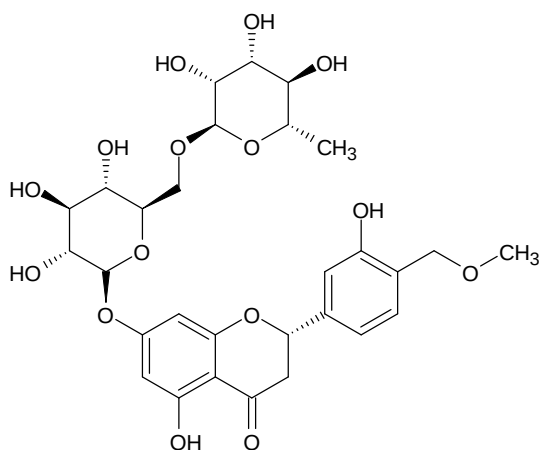
(5) 3-O-rutinosídeo-cianidina



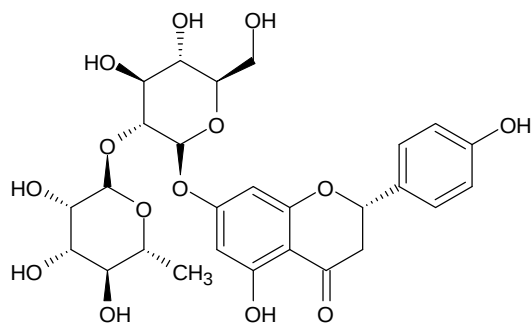
(6) 3-O-(6''-dioxalil-glicosídeo)-
cianidina



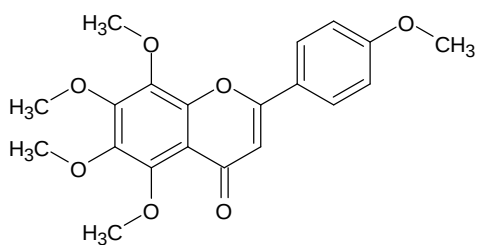
(7) 3-O-(6''-malonil-glicosídeo)-
cianidina



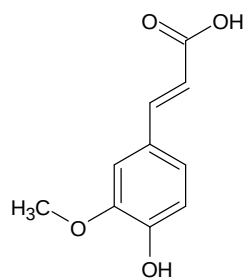
(8) Hesperidina



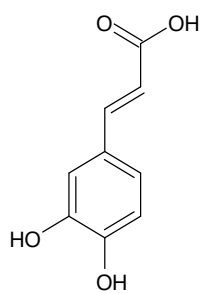
(9) Naringina



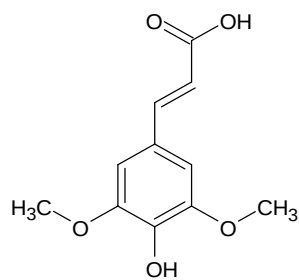
(10) Tangeretina



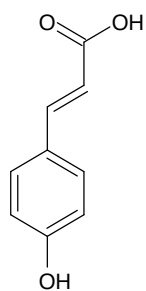
(11) Ácido ferúlico



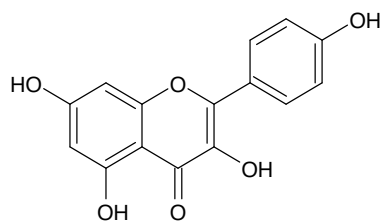
(12) Ácido cafeico



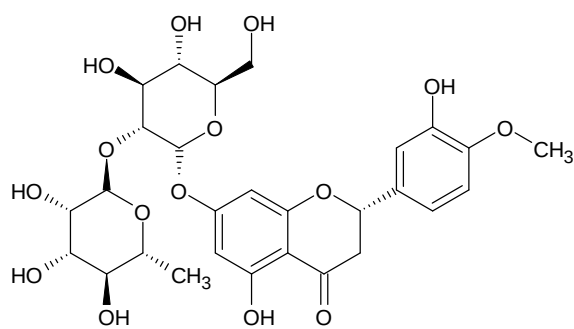
(13) Ácido sinápico



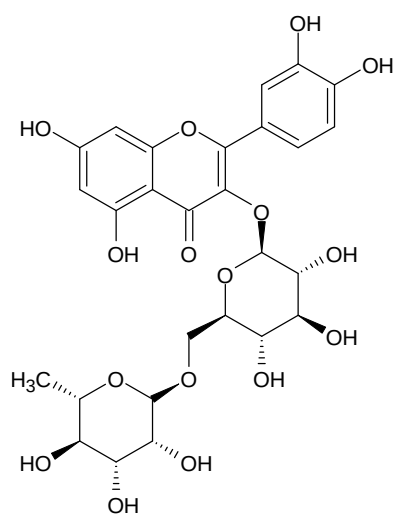
(14) Ácido *p*-cumárico



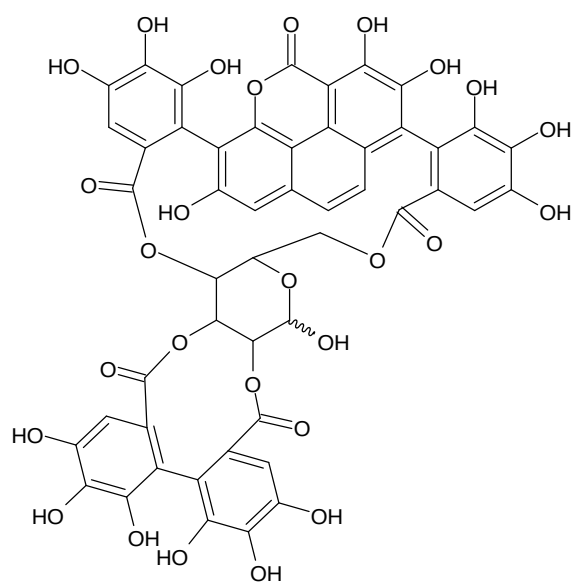
(15) Canferol



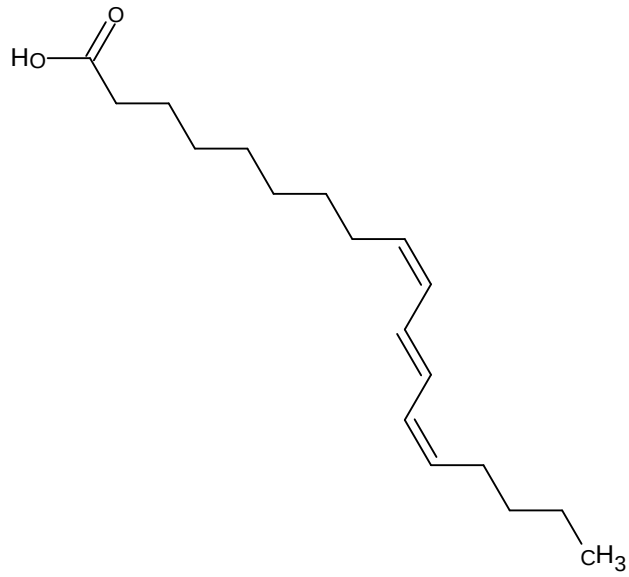
(16) Neohesperidina



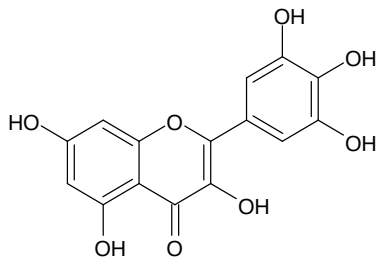
(17) Rutina



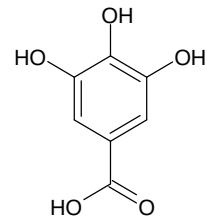
(18) Punicalagina



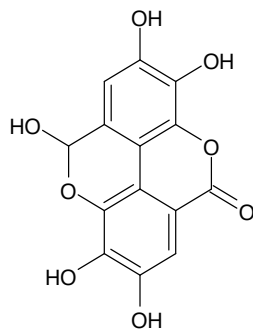
(19) Ácido punicico



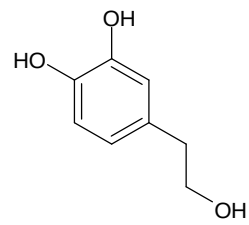
(20) Miricetina



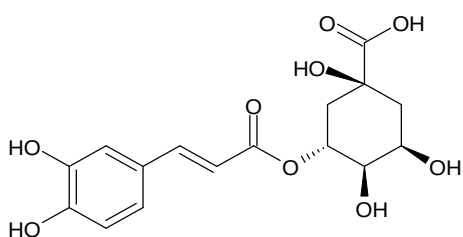
(21) Ácido gálico



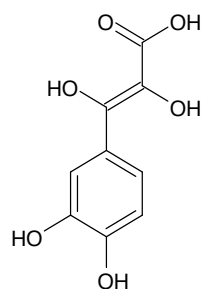
(22) Ácido elágico



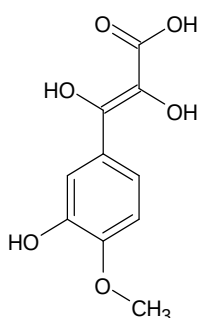
(23) Hidroxitirosol



(24) Ácido clorogênico



(25) Ácido diidroxicaféico



(26) Ácido isoferúlico

Os resultados promissores encontrados nos trabalhos citados acima, evidenciam a importância em se estudar os resíduos industriais de frutas, os quais podem ser fontes de compostos que apresentem novas utilidades. Mesmo diante destes resultados promissores, ainda há poucos estudos que relatam a extração de compostos bioativos de resíduos de frutas, mesmo considerando sua importância e sua produção em larga escala tanto do ponto de vista da sociedade como um todo quanto pelas indústrias alimentícias [5].

1.1.2 Manga (*Mangifera indica*)

A fruta manga é produzida pela árvore perene da espécie *Mangifera indica*, popularmente conhecida como mangueira. Ela pertence à família Anacardiaceae que compreende cerca de 850 espécies e 73 gêneros, sendo a maioria espécies frutíferas, como o caju (*Anacardium occidentale*), pistache (*Pistacia vera*), marula (*Sclerocarya birrea*), cajá vermelho (*Spondias purpurea*)

e o umbu (*Spondias tuberosa*). O gênero *Mangifera* possui cerca de 69 espécies catalogadas em todo o mundo, incluindo a *M. indica*, *M. altíssima*, *M. longipes*, *M. caesia*, *M. macrocarpa* e *M. cochinchinensis* [31].

No mundo todo a manga é conhecida popularmente como “O rei das frutas”, devido ao seu sabor, valor nutricional e sua importância econômica. É cultivada em mais de 120 países, principalmente de clima tropical, onde o Brasil classifica-se na nona posição como maior produtor dentre estes [31-33]. A produção de manga no Brasil em 2020 foi de 1.505.372 toneladas, sendo o fruto consumido in natura e na forma de outros subprodutos, como sucos, néctares e doces e por isto é um fruto com grande atrativo econômico [33-35].

A manga é uma fruta carnosa diversificada, que possui diversos tamanhos, variando entre 2,5 e 30 cm de comprimento, possuindo uma forma redonda ou oval e sua massa corresponde, aproximadamente, de 200 a 2000 gramas [31-34]. A casca pode ser lisa, áspera ou cerosa, representando 15-20% da fruta e sua coloração varia de acordo com o genótipo, encontrando-se, por exemplo, nas cores verde, amarela e vermelha [35]. A polpa corresponde a 45-65% do fruto, possui coloração amarelada e é fibrosa, já o caroço representa cerca de 20-45% da manga onde é encontrada a semente, que está localizada internamente, e possui a coloração marrom [31, 36, 37].

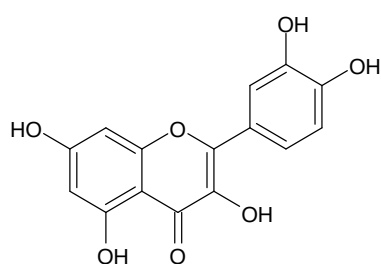
O fruto é rico em nutrientes que beneficiam a saúde humana e animal, como as vitaminas, principalmente a vitamina A e C, lipídios, minerais (cálcio, magnésio, ferro e potássio), fibras, carboidratos (frutose, sacarose, glicose e pectina), aminoácidos (glicina, serina, leucina, alanina, arginina e isoleucina) e os ácidos graxos (oleico, palmítico e linoleico) [31, 38, 39].

A polpa da manga madura possui cerca de 15% de açúcares, sendo uma excelente fonte energética natural, entre valores de 60 e 190 kcal em 100 gramas de polpa [31, 39]. Além destes nutrientes, a fruta possui outros compostos bioativos que contribuem para a saúde, que varia de acordo com a variedade, sazonalidade e a maturação da fruta, justificando sua alta produção e consumo por todo o mundo [31].

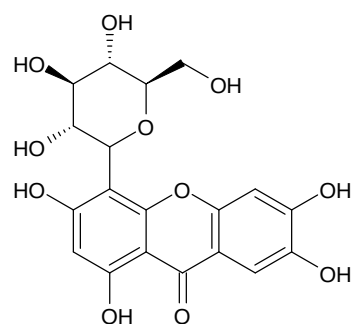
A composição química da manga é formada, principalmente, por derivados fenólicos, como os flavonoides, os ácidos fenólicos e, principalmente,

os xantonoides. O fruto possui diversos compostos bioativos que apresentam efeitos farmacológicos, como antioxidante, antiviral, antibacteriano, antialérgico e anti-inflamatório. Dentre estes, os derivados fenólicos se destacam devido ao seu alto potencial antioxidante, como o ácido elágico (22), a quercetina (27) a mangiferina (1), isomangiferina (28), homo-mangiferina (29), mangiferingalato (30), 6-O-galoil-mangiferina (31) e 6-O-(*p*-hidroxibenzoil)-mangiferina (32), que são encontrados na polpa e na casca da manga (Figura 2) [31, 39, 40].

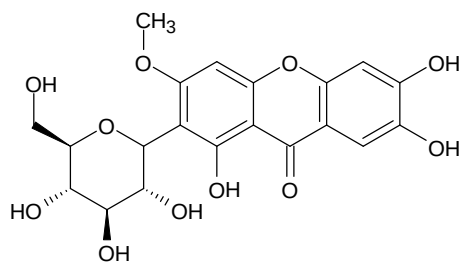
Figura 3 – Estrutura química dos compostos presentes nas partes da fruta manga relatados na literatura.



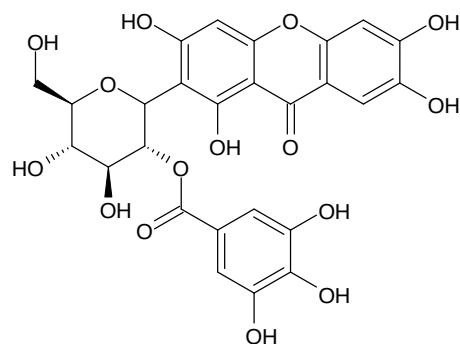
(27) Quercetina



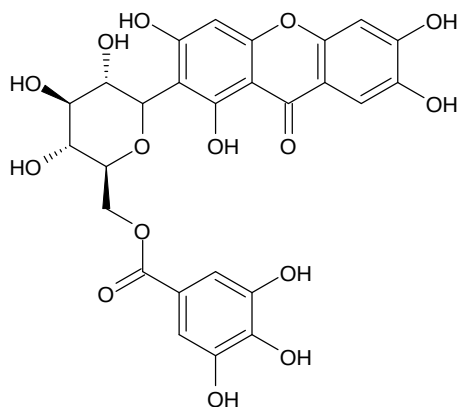
(28) Isomangiferina



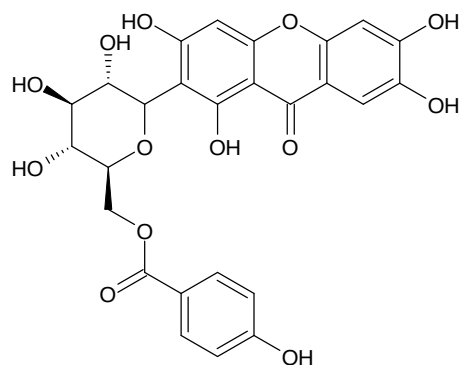
(29) Homomangiferina



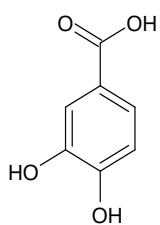
(30) Mangiferingalato



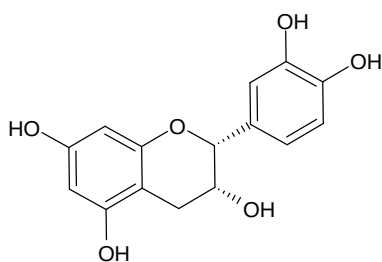
(31) 6-O-galoil-mangiferina



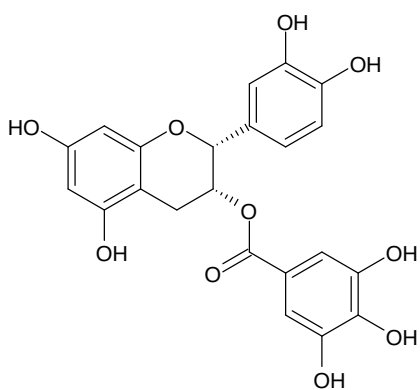
(32) 6-O-(*p*-hidroxibenzoil)-
mangiferina



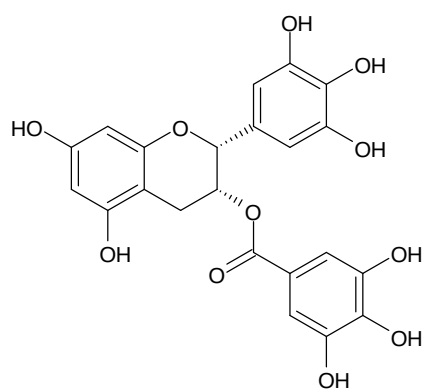
(33) Ácido protocatecuico



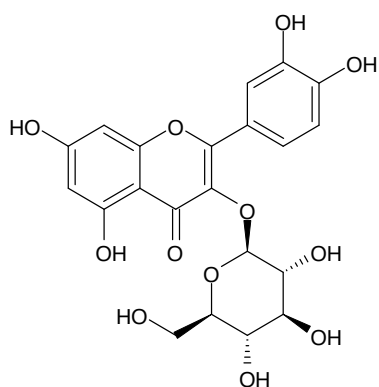
(34) Epicatequina



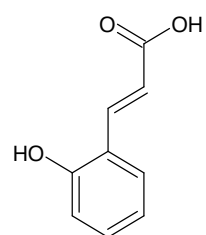
(35) Galato de epicatequina



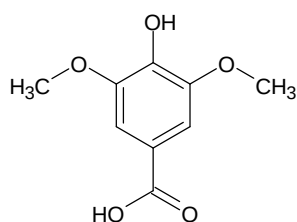
(36) Galato de epigalocatequina



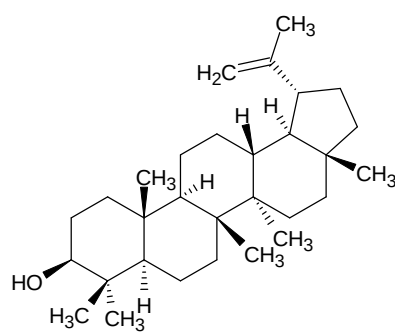
(37) Quercetina-3-O-glucopiranosídeo



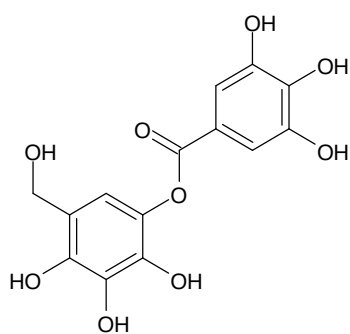
(38) Ácido O-cumarico



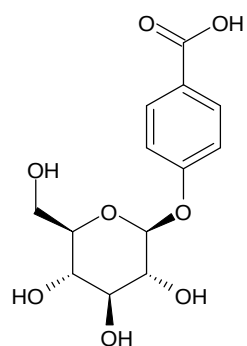
(39) Ácido siríngico



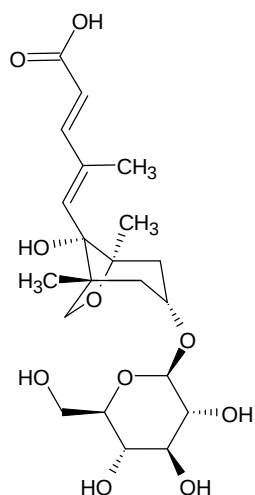
(40) Lupeol



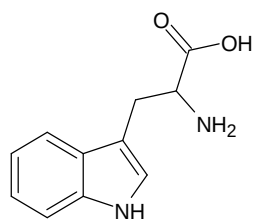
(41) Glicosídeo do mono-galoil



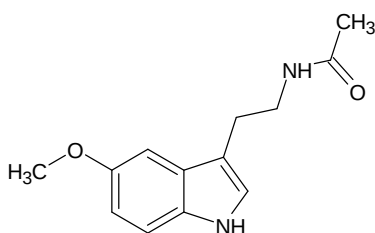
(42) Glicosídeo do ácido *p*-hidroxibenzoico



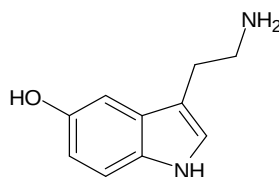
(43) Glicosídeo do ácido dihidrofásico



(44) Triptofano



(45) Melatonina



(46) Serotonina

Estudos com as cascas da manga se destacam entre os relatos da literatura. Dentre eles pode-se citar o estudo que realizou a extração à quente com água das cascas da manga, permitindo a identificação do ácido gálico (21), rutina (17), quercetina (27), ácido protocatecuico (33) e epicatequina (34). Neste estudo também foram encontrados o maior teor de fenólicos, de atividade antioxidante e anti-inflamatória em comparação aos outros extratos de resíduo de frutas avaliados [7]. Em um outro estudo, um ensaio fitoquímico foi realizado no extrato metanólico das cascas, revelando a presença de saponinas, taninos, alcaloides, esteroides, flavonoides, terpenoides e glicosídeos [41]. Em um trabalho bem recente, 2023, os pesquisadores sintetizaram nanopartículas de prata em mistura com um extrato hidroetanólico das cascas de manga com a finalidade de aplicação biomédicas tendo como resultado um alto potencial anti-inflamatório, anticancerígeno e antibacteriano [42].

Um estudo verificou o aproveitamento das cascas da manga para produzir licores e recuperar os compostos bioativos. Para isso, foi realizada a extração por maceração com pectinase e com álcool vínico (65%), gerando licores com alta atividade antioxidante onde foram identificados os flavonoides galato de epicatequina (35), galato de epigallocatequina (36), quercetina-3-O-glucopiranosídeo (37) e rutina (17) além dos ácidos fenólicos ácido gálico (21), ácido O-cumárico (38) e ácido siringico (39) [43]. A pectina é um polissacarídeo que é presente na manga e é muito utilizada em cosméticos. Uma investigação mostrou que em oito cultivares de cascas de mangas coletadas em diferentes regiões de cinco países resultaram no rendimento de 7,63%–14,75% de pectina, sendo realizada com o método de ácido quente (HCl, pH 2) [44]. Outro estudo, extraiu pectinas das cascas de manga através da extração assistida por micro-ondas à 130°C por 30 min (800 W) e polifenóis por extração sólido líquido à 60°C por 30 min, utilizando como solvente de extração para ambos a água destilada. A extração resultou no rendimento de pectinas e polifenóis, respectivamente, de 102,14 e 25,01 mg/g de cascas secas [45].

Na casca e polpa de manga também é relatado a presença do lupeol (40), que é um triterpeno que auxilia na redução dos níveis de colesterol e possui ação anti-inflamatória, anti-microbiana, anti-protozoária, anti-proliferativo, antiangiogênico, anti-artrite e anti-diabético. Um banho ultrassônico foi utilizado na extração do lupeol (40) e da mangiferina (1), utilizando uma mistura dos solventes etanol e acetona (7:3 v/v) por 30 min [8].

Um teste *in vivo* demonstrou que a mangiferina apresenta uma atividade neuroprotetora, mostrando que este composto age contra distúrbios cerebrais que envolve o excesso de glutamato, o qual é o causador de muitos distúrbios neurológicos como a isquemia cerebral, epilepsia e doenças neurodegenerativas [46].

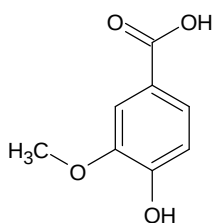
Uma extração sólido líquido foi realizada na polpa da manga, onde foi utilizado uma mistura de solventes (etanol/acetona/metanol, 1:1:1) por 30 min, obtendo um extrato onde foi possível identificar a presença de ácido gálico (21), glicosídeo do mono-galoil (41), glicosídeo do ácido *p*-hidroxibenzoico (42), glicosídeo do ácido dihidrofásico (43) e galotaninos. Este estudo também

mostrou que os polifenóis extraídos possuem ação anti-inflamatória comprovada por testes *in vitro* e *in vivo*. Muitos destes polifenóis extraídos da polpa demonstram atenuar a inflamação intestinal e a carcinogênese [47, 48].

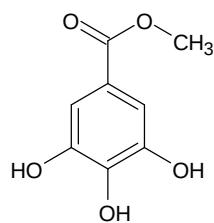
Na polpa da manga, também foram identificados o triptofano (44) e os hormônios melatonina (45) e serotonina (46), os quais foram extraídos através das extrações em fase sólida e por ultrassom. Estes hormônios possuem atividade biológicas comprovada em tratamentos contra a insônia, cânceres e ação antioxidante, com destaque para o triptofano que é um precursor crucial na biossíntese da melatonina [49].

O bagaço de manga é um resíduo de origem agroindustrial e é formado por fibras e fragmentos de cascas e da polpa. Estudos mostram que a composição química do bagaço de manga é formada por fibras, proteínas, carboidratos, lipídios, cinzas e amido, onde também estão presentes os compostos fenólicos e derivados que possuem ação antioxidante e antigástrica [50-54]. Dentre estes compostos, foram identificados os ácidos fenólicos: ácido clorogênico (24), ácido gálico (21), ácido elágico (22), ácido vanílico (47), galato de metila (48), galato de etila (49), éster de metil digalato (50), ácido di-gálico (51), galoil glicosídeo (52), tri- (53), tetra (54), hexa- (55), hepta- (56) e octa-O-galoil-glicose (57), ramnetina-3-(6''-2-butenoilhexosídeo) (58); as duas benzofenonas maclurina mono- (59) ou di-O-galoil-hexosídeo (60); os flavonóides quercetina (27) e quercetina-3-O-hexosídeo (61) e as xantonas mangiferina (1), isomangiferina (28) e homo-mangiferina (29) [53, 54].

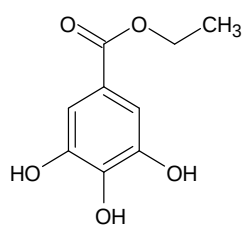
Figura 4 – Estruturas químicas dos compostos presentes no bagaço de manga.



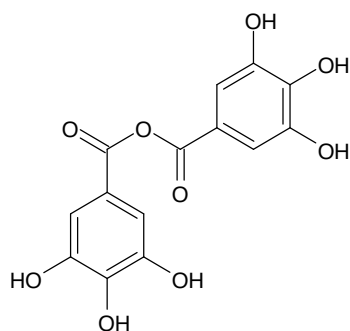
(47) Ácido vanílico



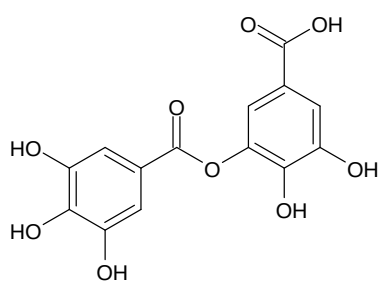
(48) Galato de metila



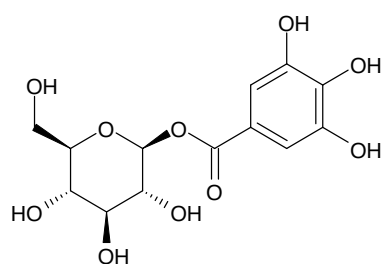
(49) Galato de etila



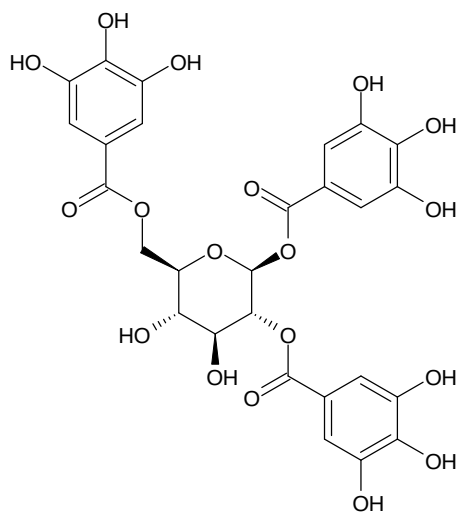
(50) Éter de digaloil



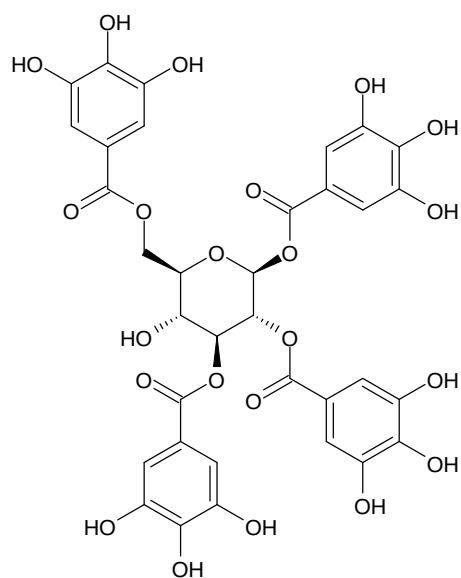
(51) Ácido di-gálico



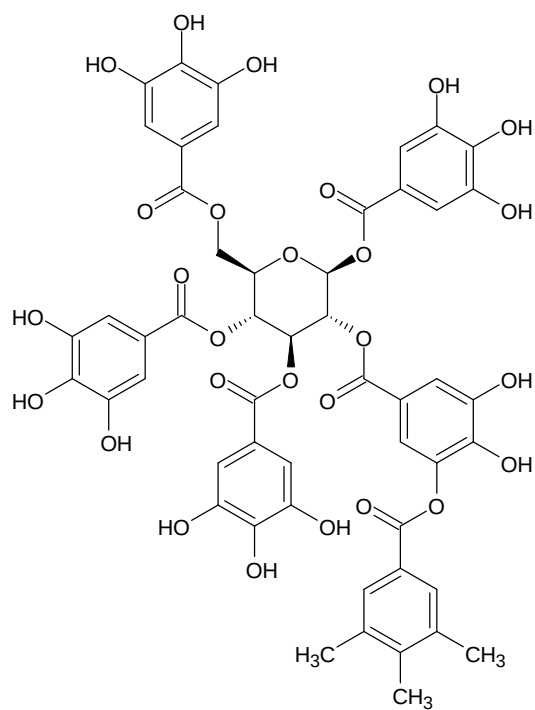
(52) Galoil glicosídeo



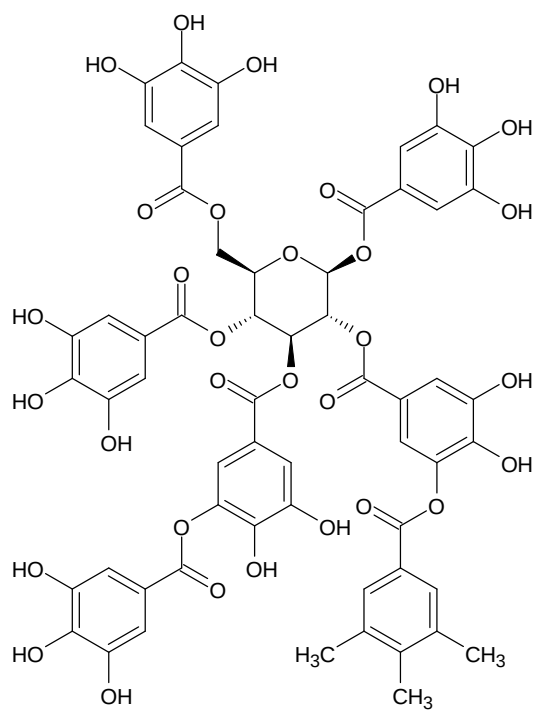
(53) Trigaloil-glicose



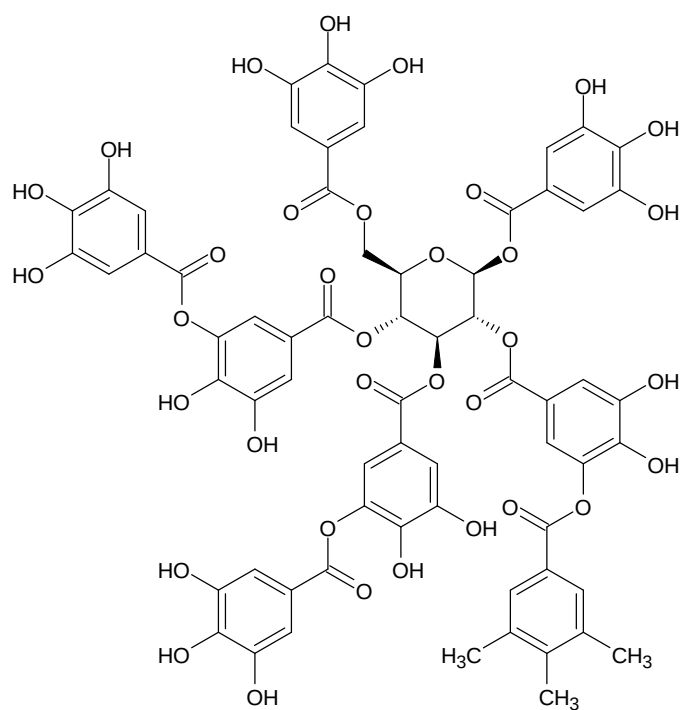
(54) Tetragaloil-glicose



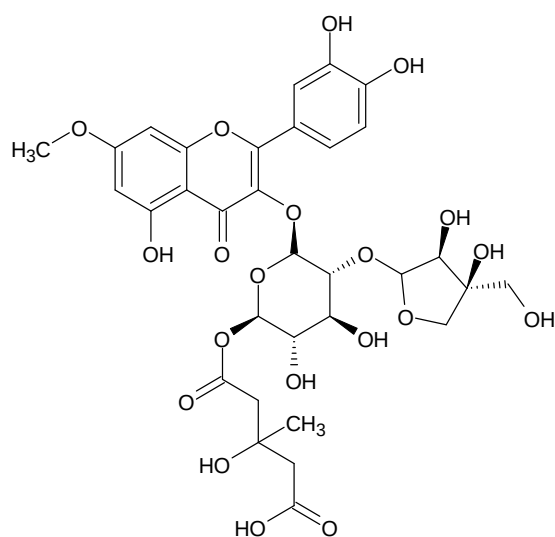
(55) Hexa-O-galloyl-gucose



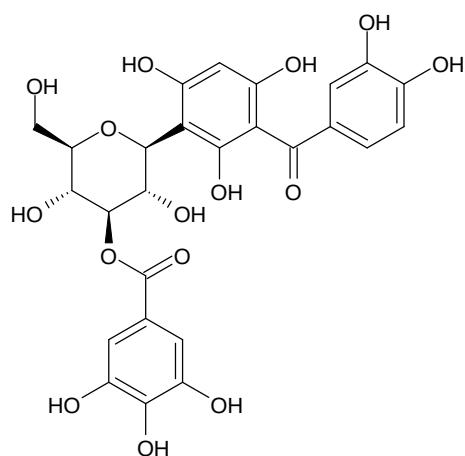
(56) Hepta-O-galloyl-gucose



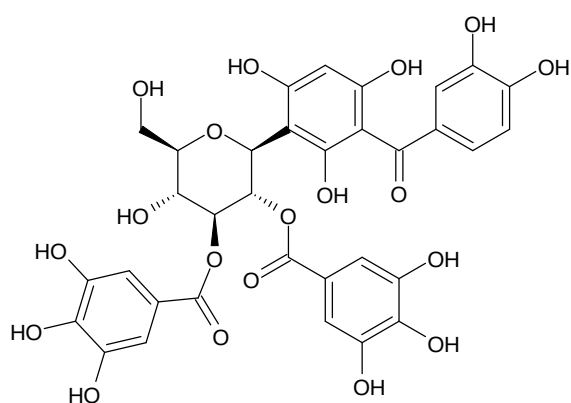
(57) Octa-O-galloyl-gucose



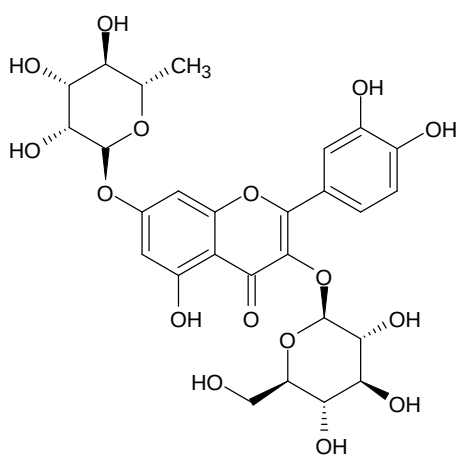
(58) Ramnetina-3-(6''-2-butenoilhexosídeo)



(59) Maclurina mono-O-galoil
hexósido



(60) Maclurina di-O-galoil hexósido



(61) Quercetina-3-O-hexosídeo

1.1.3 Extrações Assistidas por Ultrassom (EAU) e Micro-ondas (EAM)

As técnicas de extrações assistidas por ultrassom (EAU) e micro-ondas (EAM) são procedimentos que possibilitam obter extratos com maiores rendimentos de componentes bioativos utilizando menor tempo de extração quando comparados aos métodos convencionais de extração [55]. Além disso, são consideradas ambientalmente amigáveis por diminuírem o consumo de energia e permitir o uso de uma menor quantidade de solventes para a extração, ao mesmo tempo em que aumentam o rendimento de vários compostos de interesse farmacológico como é o caso dos derivados fenólicos, carotenóides e flavonoides, que apresentam ação antioxidante e anti-inflamatória [55].

1.1.3.1 Extração Assistida por Ultrassom (EAU)

O ultrassom é uma frequência de 20 kHz a 10 MHz que está acima da audição humana, sendo uma onda sonora muito utilizada em equipamentos para monitoramento de órgãos humanos (ultrassonografia), sínteses, homogeneização de soluções laboratoriais, limpeza de superfícies de objetos e extrações de constituintes químicos de diversos materiais vegetais [10, 11].

A técnica de extração assistida por ultrassom (do inglês: *Ultrasound Assisted-Extraction* – UAE) é uma técnica moderna que através das ondas sonoras realiza extrações dos compostos presentes no material em estudo para o solvente de extração, sendo uma técnica que se baseia na formação de bolhas de cavitação como principal efeito de extração [10,11].

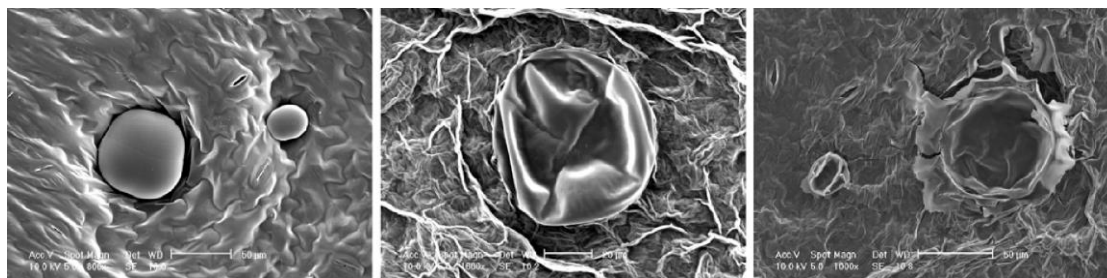
As bolhas de cavitação são formadas devido aos processos de rarefação e de compressão que são induzidas pelo(s) solvente(s) de extração(ões), as quais são criadas simetricamente e em seguida são implodidas em temperaturas e pressões, respectivamente, próximos de 5000 K e 2000 atm. Quando estas bolhas colapsam próximo de alguma superfície é criado um jato de alta velocidade em direção da superfície do material e o solvente é arrastado por esse jato da bolha de cavitação [10, 11].

A utilização da extração assistida por ultrassom (EAU) em material vegetal tem sido muito empregada, por ser uma técnica rápida e que produz ótimos

rendimentos. Isto colabora para a obtenção de extratos ricos em compostos químicos que possuem atividades biológicas de grande interesse para a população, pois maior parte destes compostos bioativos são utilizados como pigmentos, fitoterápicos, fragrâncias e conservantes. Estes compostos estão ganhando atenção das indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética não só pelos benefícios que causam a saúde humana, mas também pela maior preocupação com os efeitos colaterais que um produto menos natural pode ocasionar para o meio ambiente de forma direta ao ser rejeitado em algum processo industrial [12].

Na Figura 5, temos a imagem da análise de microscopia de varredura eletrônica das folhas de manjerição-de-folha-larga para a extração de óleo essencial através da EAU, onde é mostrado o colapso de bolhas de cavitação. Nesta imagem é demonstrado da esquerda para a direita que as bolhas formadas entram em colapso e com isso quebra parte da parede celular do material vegetal em estudo, liberando os analitos presentes na planta para o solvente de extração [10].

Figura 5 – Colapso das bolhas de cavitação nas partes aéreas do manjerição-de-folha-larga (*Ocimum basilicum* L.) para a extração do óleo essencial [10].



A extração dos analitos presentes no material vegetal através da técnica de EAU envolve muitos processos de interação entre o solvente e a planta. Os processos de difusão dos analitos com o solvente é aprimorado com as bolhas de cavitação. Estes processos de difusão segundo Vinatoru *et al.* [10], são:

- a) Difusão dos componentes da planta em direção à camada externa estagnada pelas bolhas de cavitação;
- b) Difusão dos componentes da planta diretamente para o solvente;
- c) Difusão da camada estagnada para o solvente e

d) Lavagem do conteúdo das células quebradas.

As difusões em conjunto com as bolhas de cavitação tornam a extração assistida por ultrassom uma técnica muito potente nas extrações dos analitos de interesse, já que as bolhas impulsionam os solventes para dentro das células vegetais e isso facilita as extrações dos diversos compostos bioativos presentes no material vegetal em estudo [10, 11].

As extrações realizadas através da técnica EAU permitem a extração de uma variedade de constituintes químicos bioativos o qual, aliado a um solvente adequado, auxilia na extração de derivados de flavonoides e fenólicos que são os metabólitos preferenciais neste estudo. Isso porque sabe-se que estes compostos apresentam diversas atividades biológicas, sendo uma delas a atividade antioxidante muito valorizada pelas indústrias de cosméticos e alimentícias, já que contribuem para o retardamento da oxidação das células em humanos e em alimentos [12].

1.1.3.2 Extração Assistida por Micro-ondas (EAM)

As micro-ondas são radiações não ionizantes do espectro eletromagnético que variam na faixa de frequência de 300 MHz (radiação de rádio) a 300 GHz, sendo 2,45 GHz (equipamentos de laboratório e doméstico) e 915 MHz (equipamentos industriais) as mais empregadas [9, 56]. A interação das micro-ondas com os materiais ocorre através do aquecimento, onde a eficiência do aquecimento é determinada pela capacidade do material de absorver as radiações da micro-ondas e dissipar o calor [9]. Nesse processo por micro-ondas, os responsáveis pelo aquecimento do material são a condução iônica e o movimento do dipolo das moléculas presentes no material [57].

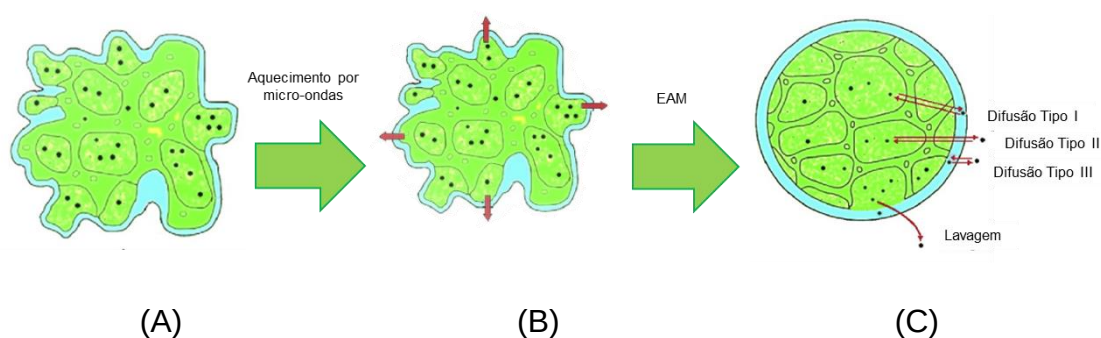
A extração assistida por micro-ondas (EAM, do inglês: *Microwave Assisted Extraction – MAE*) é uma técnica jovem, datada em 1986, onde utiliza dos solventes e as micro-ondas para extrair os componentes bioativos do material vegetal [9]. Ao utilizar solventes polares a extração ocorre devido aos movimentos das moléculas do solvente sobre o material vegetal, gerando um

movimento de fricção entre elas e o material vegetal quando as moléculas tentam se combinar ao campo elétrico formado pela condução iônica. Este processo gera o aumento da temperatura e a fragmentação do material vegetal em estudo que acaba liberando os componentes químicos no solvente de extração [9, 55]. Em solventes apolares a extração não ocorre devido ao momento dipolo ser zero e com isso não produz calor no momento da extração [53].

No material vegetal há presença de umidade e por isso que, ao se utilizar a EAM, haverá a evaporação e criação de uma enorme pressão interna sobre a parede celular, que irá enfraquecer e quebrar, realizando a extração de forma exaustiva, sucessivamente, facilitando a penetração do solvente e com isso extraíndo os componentes fitoquímicos e/ou bioativos. Outro processo que ocorre na extração é a expansão e ruptura da célula vegetal causado pelo fluxo do micro-ondas, devido a composição do material vegetal, que resulta na abertura da parede celular [57].

Na Figura 6, é apresentado o possível mecanismo de extração dos componentes de interesse em material vegetal, ao empregar a técnica de EAM.

Figura 6 – Possível esquema da extração da extração assistida por micro-ondas, adaptado de Vinatoru *et al.* [9].



No processo (A) ocorre a solvatação do material vegetal, em (B) ocorre o inchaço no material após o aquecimento com as ondas de micro-ondas, pois o solvente penetra na amostra. Após a quebra da parede celular, ocorre a extração dos compostos, o processo (C) de difusões e a lavagem ocorrem da mesma forma que na extração assistida por ultrassom [9].

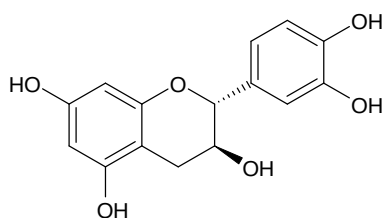
A EAM é uma técnica de extração que possibilita a obtenção de componentes químicos como os fenólicos, açúcares, flavonoides e óleos essenciais [58]. Estes compostos são extraídos de frutas, cascas, sementes, folhas, caules entre outros materiais vegetais que apresentam altos potenciais biológicos [57].

1.1.3.3 Extração de Componentes Bioativos por EAU e EAM

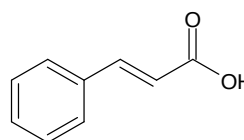
Na literatura é encontrado diversos trabalhos sobre extrações de derivados fenólicos das partes aéreas, frutos e sementes de plantas utilizando das extrações assistidas por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM).

Um estudo que utilizou a EAU das folhas da espécie *Croton heliotropiifolius* possibilitou a identificação de dez compostos fenólicos presentes no extrato etanólico, sendo eles a catequina (62), ácido gálico (21), quercetina (27), ácido vanílico (47), ácido elágico (22), ácido cafeico (12), ácido *trans*-cinâmico (63), ácido *p*-cumárico (14), ácido síngico (64), ácido ferúlico (11) e ácido clorogênico (24) [59]. O estudo dos extratos dos caules secos de *Dendrobium formosum* obtidos por EAM, permitiu a identificação dos compostos fenólicos celonina (65), eriantridina (66), muscatilina (67), lusiantridina (68), gigantol (69) e batatasina III (70) [60].

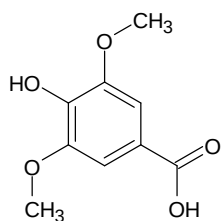
Figura 7 – Estruturas químicas dos compostos presentes nos extratos obtidos por EAU e EAM.



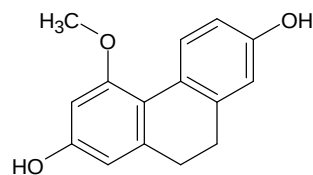
(62) Catequina



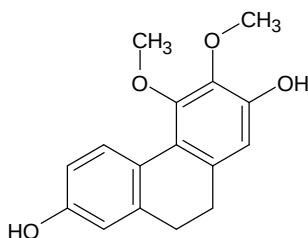
(63) Ácido *trans*-cinâmico



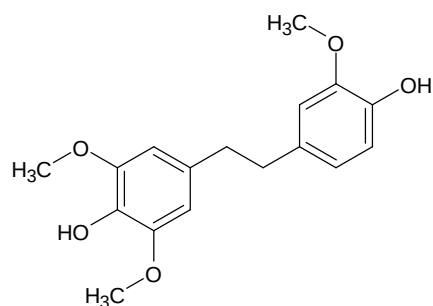
(64) Ácido síngico



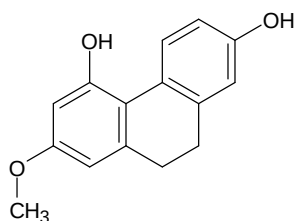
(65) Coelonina



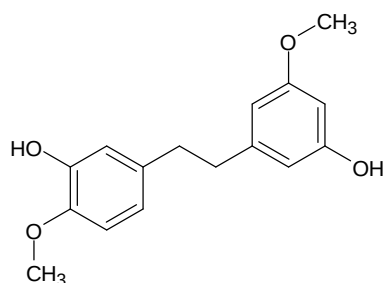
(66) Eriantridina



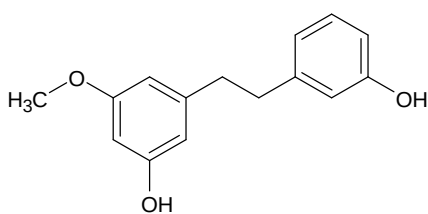
(67) Muscatilina



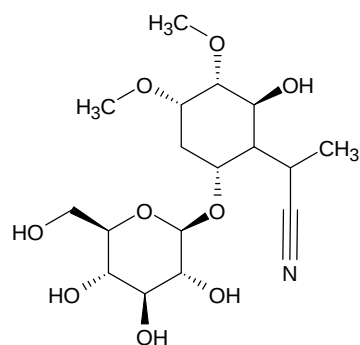
(68) Lusiantridina



(69) Gigantol



(70) Batatasina III



(71) Simmondsina

Outro estudo que utilizou a EAU na obtenção de extratos aquosos e hidroalcoólicos das cascas de noz pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] permitiu a identificação, por CL-EM, de 29 e 27 compostos fenólicos,

respectivamente, com destaque para os compostos majoritários identificados, a catequina (62) e ácido gálico (21) [61]. A extração dos componentes das folhas de *Aloe vera* por EAM possibilitou a identificação de 32 compostos fenólicos e 29 saponinas, por CL-EM, com o extrato apresentando um alto potencial antioxidante [62].

Estudos relatando comparações entre o método de extração por ultrassom com outras técnicas também são comuns na literatura. Um exemplo é encontrado no trabalho envolvendo a extração de compostos das folhas da árvore da espécie *Leptospermum petersonii*, que possui um aroma de limão. Os autores comparam a extração por EAU e por banho de água com agitação (EBAA), mostrando que o extrato obtido por EAU apresentou maior teor de compostos fenólicos do que a EBAA, com valores de 98,91 e 85,81 mg EAG/g ms das folhas, respectivamente [63].

A comparação entre a extração por micro-ondas e outras técnicas também é comum na literatura. Um destes estudos foi a comparação da técnica de extração por EAM com a maceração a partir das cascas de toranja (*Citrus × paradisi*). O extrato obtido por EAM além de apresentar maior potencial antioxidante dos dois, também apresentou maior rendimento na extração dos fenólicos quando comparado ao extrato por maceração, com valores de $31,10 \pm 2,11$ e $26,75 \pm 1,15$ mg EAG/g ms de extrato seco, respectivamente [64].

A técnica de extração assistida por ultrassom é uma das poucas técnicas que possibilita a manipulação de parâmetros que contribuem para as extrações dos analitos. O tempo de extração é, sem dúvida, o mais avaliado já que é considerado um dos principais motivos da técnica ser utilizada, permitindo realizar extrações expressivas de diversos compostos em poucos minutos. A temperatura é outro parâmetro que pode ser controlado na EAU e que modifica as características físicas e químicas do analito, já que alguns são compostos termicamente instáveis e estáveis. A potência e a frequência são parâmetros que estão correlacionadas as bolhas de cavitação, já que influenciam na produção e colapso das bolhas. Estes parâmetros contribuem nas extrações de forma conjunta, uma vez que cada um afeta o material vegetal de diferentes formas,

sendo necessário o estudo prévio de seus efeitos na extração dos compostos de interesse de forma a encontrar o melhor valor para cada um deles [10, 11].

Na técnica de extração assistida por micro-ondas, também é possível manipular os parâmetros para obter maiores rendimentos de extrato ou de compostos específicos e respostas de determinadas atividades biológicas. A temperatura é um importante parâmetro pois contribui para o aumento do rendimento. Isto ocorre porque a viscosidade e a tensão superficial do solvente diminuem, permitindo que ele umedeça a amostra e penetre com mais facilidade para extrair os compostos de interesse. A variação da temperatura é dependente do tipo de solvente utilizado durante o processo de extração, já que o solvente precisa absorver as ondas micro-ondas e potência aplicada do equipamento.

Outra vantagem do EAM é o tempo curto de extração em comparação com técnicas convencionais. Estudos apontam o aumento do rendimento com o aumento do tempo de extração, o qual foi observado no estudo para a extração de flavonoides da espécie *Radix astragali*. O rendimento foi máximo em 25 min e em seguida caiu rapidamente. Este comportamento pode ocorrer devido a vários efeitos, são eles: efeito da radiação por diferentes durações, o impacto do mecanismo de interação entre micro-ondas e as células vegetais, o tipo de compostos alvo e impurezas presentes. A potência é um parâmetro que deve ser escolhida corretamente, uma vez que ela tem efeito direto no tempo de extração para se obter a temperatura adequada. Altas potências com maior tempo de irradiação pode ocasionar perda do solvente por evaporação [55, 65].

As ferramentas matemáticas são empregadas em conjunto com os parâmetros da EAU com o objetivo de ter uma projeção dos valores ótimos para a extração dos compostos. Estes valores são calculados através dos tratamentos matemáticos, por exemplo os projetos de Box-Behnken (do inglês: *Box–Behnken Design* – BBD) e composto central (do inglês: *Central Composite Design* – CCD), os quais aplicam correlações entre os parâmetros de extração que otimizam e modelam os processos complexos para calcular os pontos ótimos, resultando em uma equação que satisfaça o experimento realizado com os parâmetros selecionados [66, 67].

A literatura relata a aplicação do planejamento BBM que possibilitou determinar as condições ótimas de extração por EAM de simmondsina (71) e de polifenóis das sementes de jojoba (*Simmondsia chinensis*), que é muito utilizado como ingrediente em produtos nutracêuticos ou farmacêuticos. Os parâmetros estudados foram a potência (100, 300 e 500W), concentração de etanol (0-96%), tempo de extração (3-15 min) e relação solvente para soluto (18,75-75 mL/g), sendo que a condição ótima foi 500W, 15 min e 41 a 45 mL/g. O maior rendimento de simmondsina (23,35%) ocorreu utilizando água pura enquanto para os polifenóis o melhor rendimento (2,33%) ocorreu com a concentração de etanol de 46,79% [68].

Um estudo avaliou a extração de compostos antioxidantes a partir de uma espécie de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sainampueng). Este trabalho utilizou EAU para extrair os compostos desta espécie e, juntamente com a análise da superfície de resposta, foram avaliadas as variáveis independentes de extração: temperatura, tempo e potência. As melhores condições encontradas foram 48 °C, 40 minutos e 56,71 Watts. Os autores fizeram uma comparação do conteúdo de fenólico e de hesperidina (8) do extrato obtido por EAU com o obtido por maceração (EM). Os rendimentos encontrados para EAU e EM foram, respectivamente, $26,50 \pm 0,01$ e $14,95 \pm 0,22$ %; o conteúdo fenólico total (mg ácido gálico equivalente 100 g^{-1} de amostra seca) foram de $14.898,64 \pm 0,01$ e $12.519,73 \pm 95,96$ e o conteúdo de hesperidina de $6409,84 \pm 0,05$ e $6153,22 \pm 0,11 \text{ mg/100 g}$, evidenciando que a extração realizada por EAU permitiu o maior rendimento de extrato, maior conteúdo fenólico e de hesperidina [66].

Além dos parâmetros citados acima, também é estudado a influência das variações de massas e solventes utilizados para obter os extratos, por exemplo a relação solvente para soluto (S/S) e as misturas de solventes, os quais em conjunto com os outros parâmetros contribuem para maiores e melhores extrações dos princípios ativos das plantas medicinais. Para extrair derivados de flavonoides da raiz seca de *Pueraria lobata*, em um trabalho os pesquisadores avaliaram o uso da técnica EAU em conjunto com a análise da superfície de resposta utilizando o projeto de composto central e de três parâmetros, sendo estes o tempo, concentração de etanol em água e relação solvente para soluto.

Utilizando o tempo de 16,02 min, uma concentração de 41,41% (EtOH) e relação solvente para soluto de 44,35 mL/g foi possível a extração de componentes que resultaram em $82,90 \pm 0,78\%$ de inibição do estresse oxidativo em células endoteliais humanas (EA. Hy926) [59]. Estes parâmetros também são estudados na EAM. Um exemplo é a avaliação da extração de compostos fenólicos totais das folhas do mamoeiro (*Carica papaya*), obtendo-se 102,59 mg EAG/g ms das folhas na condição ótima de extração com a concentração de etanol de 56%, relação solvente para soluto de 12 mL/g, tempo de 3 min e potência de 420W [69].

Na literatura também é encontrado comparações entre as extrações por ultrassom e micro-ondas, como no estudo que realizou a otimização, com o auxílio do planejamento Box-Behnken, para a extração de compostos fenólicos do resíduo da casca de limão. As condições ótimas de extração para EAM foram 55%EtOH e 140W de potência de micro-ondas ondas por 45 s com 8 repetições da etapa de extração; e para EAU foram 38% EtOH, 38% de amplitude ultrassônica com 4 min de tempo de extração. Os extratos de cada método de extração apresentaram altas atividade antioxidantes e de conteúdo de fenólicos totais de 53 (EAM) e 54 (EAU) mg EAG/g ms [70].

Outro estudo comparou a eficiência das duas técnicas (EAU e EAM) na extração de compostos fenólicos do resíduo industrial de cascas de romã. As condições de extração avaliadas para a EAM foram relação solvente/soluto de 60 mL/g, potência de 600 W e tempo de 4 min, enquanto para a EAU foram a relação solvente/soluto de 32,1 mL/g, amplitude de 52 W, temperatura de 35 °C e tempo de 10 min, mantendo a concentração de etanol de 50% para as duas técnicas. O conteúdo de fenólicos totais na extração foi de 199,4 (EAM) e 119,82 (EAU) mg EAG/g ms, o conteúdo de punicalagina foi de 143,64 (EAM) e 138,8 (EAU) mg/g ms, e atividade antioxidante de 94,91% (EAM) e 94,77% (EAU). Este trabalho demonstrou que a EAM foi a técnica mais eficiente na extração de componentes fenólicos do resíduo das cascas de romã em comparação com a EAU [71].

As técnicas de extrações assistida por ultrassom e por micro-ondas apresentam princípios de extração distintos, mas apresentam muitas vantagens,

além de serem técnicas de simples manuseio, permitem realizar extrações em pouco tempo, de forma ambientalmente amigável e com o controle da temperatura e de outros parâmetros. Uma das observações que se deve fazer sobre o uso destas técnicas, e que de certa forma pode ser uma desvantagem é o tempo de extração, já que em diversos estudos foi constatado que o uso de tempo muito longos pode causar a degradação do material vegetal gerando compostos indesejáveis, que atrapalham tanto o rendimento quanto a aplicação dos compostos que foram extraídos [9, 10, 11, 55].

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Caracterizar os componentes bioativos dos resíduos industriais do bagaço e da casca da manga, avaliar as condições de extração e sua influência na caracterização, no rendimento total, na atividade antioxidante e no teor de fenólicos totais dos extratos obtidos.

2.2 Específicos

- Extrair os compostos fenólicos dos resíduos de manga através das técnicas de extração por maceração, ultrassom e micro-ondas;
- Avaliar as condições de extração e sua influência no rendimento total, no conteúdo de fenólicos e de flavonoides totais e no perfil do espectro de massas;
- Determinar a condição de extração mais eficiente na obtenção dos compostos fenólicos, utilizando experimentos preliminares (fator único) e planejamento composto central (CCD) para EAU e somente CCD para EAM;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos dos resíduos empregando os testes DPPH, FRAP e ABTS;

- Comparar e avaliar a técnica de extração que apresenta o extrato com maior atividade antioxidante, maior conteúdo de fenólicos e flavonoides.
- Identificação dos constituintes químicos dos extratos do bagaço e cascas da manga por espectrometria de alta resolução.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais e equipamentos

- Etanol (NEON, Susano, SP) grau analítico;
- Água deionizada (Milli-Q, modelo Gradient, Millipore, São Paulo, SP, Brasil);
- Estufa de circulação forçada (Modelo Marconi ML35);
- Balança analítica (Modelo APX-200, Denver Instrument Company);
- Ultrafreezer Liotop (Modelo UFR30, Liobras, São Carlos, SP, Brasil);
- Liofilizador de bancada Liotop (Modelo L101, Liobras, São Carlos, SP, Brasil);
- Refrigerador (Modelo TF/TFS, Electrolux);
- Liquidificador (Modelo power 2i nl-26 branco/cinza, 500W, 110V, Mondial);
- Peneiras para análise granulométrica (Bertel, Caieiras, SP, Brasil);
- Banho de ultrassom Elma (Volume de 5,75 litros, Elmasonic P 60H, Alemanha);
- Equipamento de Micro-ondas (NEOS-GR, Milestone, Itália);
- Programa Minitab Statistical;
- Programa PAST (Paleontological Statistics);

- Agitador de tubos tipo *vortex* [Modelo mx-f(gom-f0002)];
- Papel filtro qualitativo Macherey-Nagel (MN 615);
- Evaporador rotatório BUCHI (modelo R-3), acoplado a uma bomba de vácuo da mesma marca (modelo V-700); com um sistema de refrigeração da marca Microquímica Equipamentos Ltda (modelo MQBTC99-20);
- Reagente de Folin & Ciocalteu's (Sigma Aldrich, St. Louis, Co, USA);
- Carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) grau analítico (Synth, Diadema, SP, Brasil);
- DPPH – 2,2-Difenil-1-picril hidrazil (Sigma Aldrich, St. Louis, Co, USA);
- Placas para cultivo de células e tecidos com 96 poços (Modelo K12-096, Kasvi, São José do Pinhais, PR, Brasil);
- Leitor de microplacas *Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Reader* (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA).
- Espectrômetro de massas Exactive HCD Plus (Thermo Scientific, Bremen, Germany): modo de infusão direta utilizando uma bomba de seringa modelo Fusion 101 (Chemyx, Stafford, TX) com uma seringa de 500 μL (Thermo Scientific, NJ, EUA), fonte de ionização Ion Max API com probe HESI (do inglês: *Heated Electrospray Ionization* – HESI), analisador Orbitrap.

3.2 Resíduo Industrial de Manga

Os resíduos do bagaço e das cascas da manga (Figura 8) foram obtidos na Pomar® do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos (Aracaju/SE).

Figura 8 – Foto dos resíduos do bagaço **(A)** e das cascas **(B)** da manga obtidos pela Pomar®.



A liofilização das amostras dos resíduos de bagaço da manga foi realizada adaptando a metodologia de Herrera-Cazares et. al. [53]. As amostras foram transferidas para frascos de vidro e congeladas no ultrafreezer na temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas. Posteriormente foram liofilizadas a $-57 \pm 1^{\circ}\text{C}$, a $7\text{ }\mu\text{Hg}$ durante 6 dias e o material resultante foi armazenado no refrigerador.

As cascas da manga foram imergidas e limpas em água corrente, congeladas e liofilizadas da mesma forma que o bagaço de manga, mas neste caso foram necessários 5 dias para realizar o processo [53, 72].

Os materiais secos (bagaço e cascas) foram triturados em um liquidificador e separados com o auxílio de peneiras de abertura de 0,500; 0,425 e 0,250 mm, respectivamente, 32, 35 e 60 mesh, gerando três particulados (32-35, 35-60 e 60 mesh) de cada resíduo.

3.3 Preparação dos Extratos

3.3.1 Extração por Maceração (MC)

Os extratos de maceração do bagaço e das cascas de manga que foram utilizados para comparação com os extratos EAU foram preparados utilizando as condições semelhantes às otimizadas pela RSM no processo de ultrassom. Para isso, foi colocado em um erlenmeyer 0,2 g do material triturado e adicionado 7,929 mL da solução de etanol em água (58,2843%) para a extração, em temperatura ambiente ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$), utilizando três tempos de extração (5 min, 1 hora e 24 horas), sendo realizados em duplicata.

Os extratos de maceração do bagaço e das cascas que foram utilizados para comparação com os extratos EAM foram preparados como citado anteriormente, mas desta vez sobre 0,2 g do material vegetal foi adicionado 16 mL da solução de etanol em água (48,981%), utilizando dois tempos de extração (11 min e 24 horas), em temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) e realizados em duplicata.

Todos os extratos obtidos foram filtrados e evaporados (45°C) sob pressão reduzida, congelados no ultrafreezer (-80°C) e liofilizados a $-57 \pm 1^\circ\text{C}$, a 7 μHg durante 36 horas, sendo acondicionados em um refrigerador.

3.3.2 Extração Assistida por Ultrassom (EAU)

A extração foi realizada em um banho ultrassônico, onde foi utilizado 0,2 g do material seco que foi colocado em um erlenmeyer (25 mL) com tampa e extraído de acordo com as condições específicas de concentração de etanol em água, relação solvente para soluto, tempo, frequência, temperatura e potência para cada experimento do planejamento de fator único e por CCD. O tempo e a temperatura foram monitorados, continuamente, por meio do painel do equipamento, sendo utilizado água destilada gelada para manter a temperatura do banho constante. Este procedimento ocorreu retirando pequenos volumes de água destilada quente e substituindo pela água fria, sempre mantendo o volume de água que o equipamento ultrassom comporta (5,75 litros).

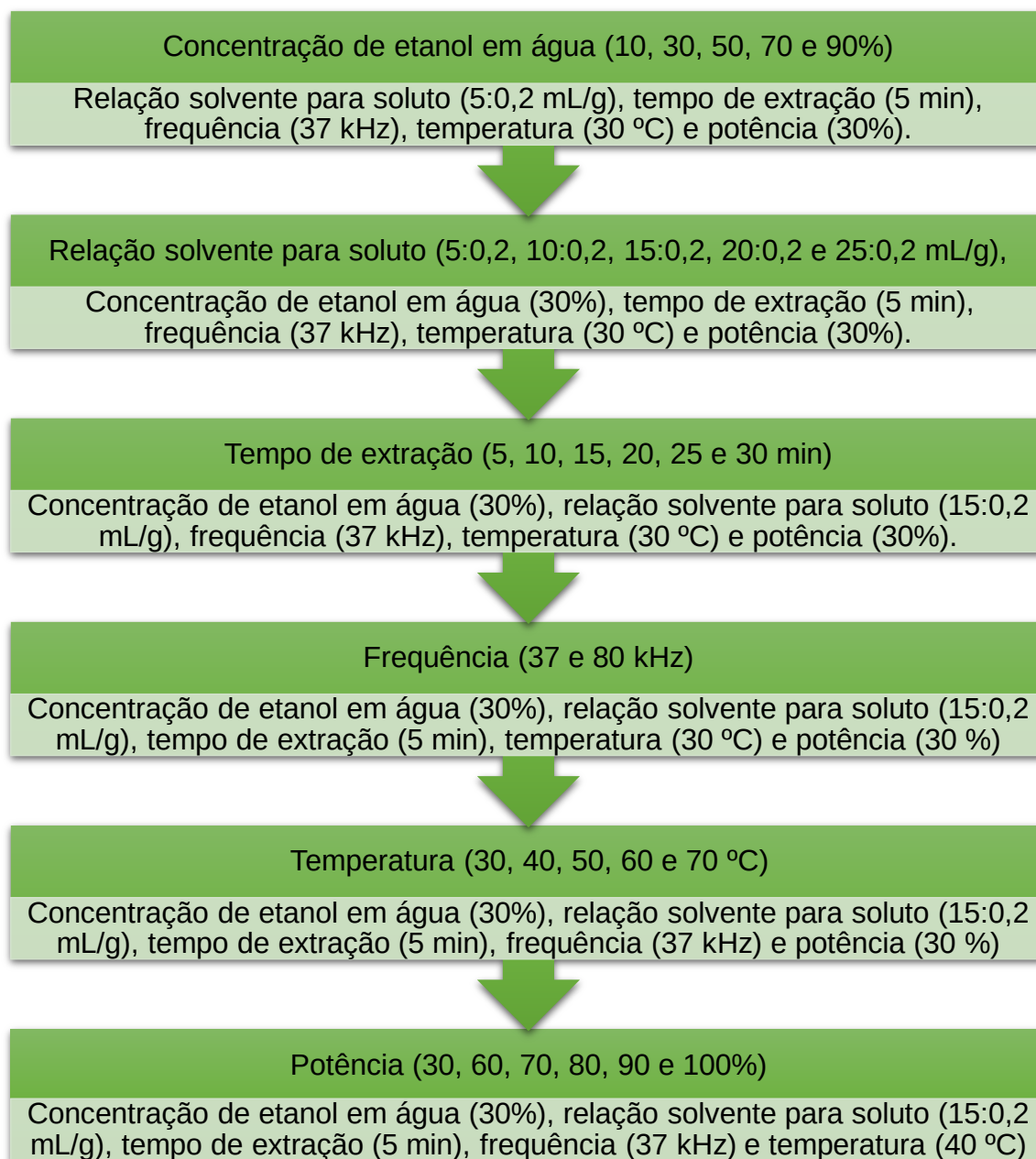
Posteriormente, os extratos obtidos foram filtrados sob pressão reduzida utilizando papel filtro para a remoção do material vegetal e, em seguida, submetidos a evaporação a pressão reduzida para a remoção do solvente orgânico a 45°C , congelados no ultrafreezer a -82°C e liofilizados (a -58°C e pressão de 7 μHg) por 36 horas para remover o solvente aquoso remanescente. Os extratos brutos foram colocados em frascos de vidro com tampa e armazenados em um refrigerador.

3.3.2.1 Planejamento experimental de fator único

Primeiramente foi realizado um planejamento experimental de fator único nas amostras do bagaço da manga para determinar o intervalo mais adequado

das variáveis de extração. Posteriormente, através de um planejamento composto central (CCD), as variáveis foram avaliadas na seguinte ordem: concentração de etanol em água (10, 30, 50, 70 e 90%), relação solvente para soluto (5:0,2, 10:0,2, 15:0,2, 20:0,2 e 25:0,2 mL/g), tempo de extração (5, 10, 15, 20, 25, 30 min), frequência (37 e 80 kHz), temperatura (30, 40, 50, 60 e 70 °C) e potência (30, 60, 70, 80, 90 e 100%). Como resposta estudada, ou seja, a variável dependente nesse planejamento foi o conteúdo de fenólicos totais, sendo os experimentos realizados em duplicata, cuja sequência experimental está ilustrada na Figura 9.

Figura 9 – Sequência do procedimento das extrações por ultrassom, realizados por meio do planejamento experimental de fator único com as variáveis: concentração de etanol em água (10, 30, 50, 70 e 90%), relação solvente para soluto (5:0,2, 10:0,2, 15:0,2, 20:0,2 e 25:0,2 mL/g), tempo de extração (5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos), frequência (37 e 80 kHz), temperatura (30, 40, 50, 60 e 70 °C) e potência (30, 60, 70, 80, 90 e 100%).



3.3.2.2 Metodologia de Superfície de Resposta

A extração assistida por ultrassom foi otimizada e auxiliada pela metodologia de superfície de resposta (RSM), sendo que as condições empregadas foram: concentração de etanol em água e relação solvente para soluto, seguindo um planejamento composto central com duas variáveis e três níveis, totalizando 11 experimentos. Os intervalos das variáveis independentes estudadas para a concentração de etanol foram 10, 30 e 50%; e para relação solvente para soluto foram de 10:0,2; 15:0,2 e 20:0,2 ml/g.

Tabela 1: Valores das variáveis independentes usadas no planejamento composto central na EAU do resíduo do bagaço da manga.

Variáveis (Símbolos)	Níveis		
	Baixo (- α)	Intermediário (0)	Alto (+ α)
Concentração de etanol (% , X_1)	10	30	50
Relação solvente para soluto (mL/g, X_2)	10:0,2	15:0,2	20:0,2

Os valores apresentados nos intervalos foram combinados, sendo empregado o programa *Minitab Statistical Software*. Nele foram aplicados o planejamento composto central para determinar os pontos dos experimentos para serem aplicados no extrato do bagaço da manga (Tabela 2).

Tabela 2: Pontos experimentais dos procedimentos realizados no bagaço de manga.

Experimento	X ₁ (%)	X ₂ (mL/0,2 g)
1	10	10
2	50	10
3	10	20
4	50	20
5	1,72	15
6	58,28	15
7	30	7,93
8	30	22,07
9 ^c	30	15
10 ^c	30	15
11 ^c	30	15

X₁: concentração de etanol em água; X₂: Relação solvente para soluto. ^c ponto central.

Os resultados estudados para extrair os compostos bioativos pelo ultrassom (EAU) em cada experimento do planejamento composto central (CCD) foram o rendimento de extração e o conteúdo de fenólicos totais. O ponto central foi realizado em triplicatas, com resultado expresso em média e desvio padrão, os quais estes foram utilizados para determinar o erro experimental, enquanto os experimentos do planejamento foram realizados de forma aleatória.

3.3.3 Extração Assistida por Micro-ondas (EAM)

O procedimento de extração dos compostos do bagaço e das cascas de manga, foi realizado com o micro-ondas de laboratório, onde foi utilizado 0,2 g de material seco que foi colocado em um balão de fundo redondo (250 mL) e extraído de acordo com as condições específicas de concentração de etanol em água, relação solvente para soluto e tempo de extração do planejamento realizado. A temperatura foi mantida constante em 84°C e a potência de 500W.

Após realizar cada extração, os extratos foram deixados em repouso por 2 minutos para, em seguida, realizar a filtração sob pressão reduzida com papel

filtro. Posteriormente, foram submetidos a evaporação a pressão reduzida para remover o solvente orgânico a 45 °C, congelados no ultrafreezer a -82 °C e liofilizados (a -58 °C e pressão de 7 µHg) por 36 horas para a remoção do solvente aquoso. Os extratos brutos foram colocados em frascos de vidro com tampa e armazenados em um refrigerador.

3.3.3.1 Metodologia de Superfície de Respostas

Inicialmente foi realizado um planejamento composto central, sendo as condições empregadas: concentração de etanol em água, relação solvente para soluto e tempo de extração. O planejamento com três variáveis e três níveis resultou em 17 experimentos. Os intervalos das variáveis independentes estudadas para a concentração de etanol foram de 30, 50 e 70%; relação solvente para soluto de 12, 16 e 20 mL e tempo de extração de 5, 10 e 15 minutos, mantendo a massa da amostra de 0,2 g constante.

Tabela 3: Valores das variáveis independentes usadas no planejamento composto central na EAM do resíduo do bagaço de manga.

Variáveis (Símbolos)	Níveis		
	Baixo (-α)	Intermediário (0)	Alto (+α)
Concentração de etanol (% , X_1)	30	50	70
Relação solvente para soluto (mL/g, X_2)	12:0,2	16:0,2	20:0,2
Tempo (min, X_3)	5	10	15

O programa *Minitab Statistical Software* foi utilizado para calcular o planejamento composto central e os valores dos intervalos das variáveis foram combinados, onde foi determinado os pontos dos experimentos para serem realizados nas amostras do bagaço da manga (Tabela 4).

Tabela 4: Pontos experimentais dos procedimentos realizados no bagaço de manga.

Experimento	X ₁ (%)	X ₂ (mL/0,2 g)	X ₃ (min)
1	30	12	5
2	70	12	5
3	30	20	5
4	70	20	5
5	30	12	15
6	70	12	15
7	30	20	15
8	70	20	15
9 ^c	16,364	16	10
10 ^c	83,636	16	10
11 ^c	50	9,273	10
12	50	22,727	10
13	50	16	1 min e 35 s
14	50	16	18 min e 24 s
15	50	16	10
16	50	16	10
17	50	16	10

X₁: concentração de etanol em água; X₂: Relação solvente para soluto; X₃: tempo; ^c ponto central.

Os resultados obtidos por EAM, em cada experimento do planejamento citado anteriormente, foram o rendimento de extração e o conteúdo de fenólicos totais, sendo que os experimentos foram realizados de forma aleatória. Para o ponto central foi realizado três repetições para determinar o erro experimental.

3.3.4 Validação do procedimento de extração por EAU e EAM

Para explicar a relação entre as variáveis dependentes e independentes para cada planejamento, foi utilizada uma função polinomial de segundo grau (Equação 1).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i X_i + \sum_{i=1}^n \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Onde Y corresponde a variável resposta (TPC); X_i e X_j (n entre 1 e 3) correspondem às variáveis independentes avaliadas em cada planejamento por EAU (%EtOH e S/S) e EAM (%EtOH, S/S e tempo); β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes de regressão do modelo; β_i para os termos lineares; β_{ii} para os termos quadráticos; e β_{ij} para os termos de interação.

Os cálculos empregados para a determinação das condições ótimas de extração por EAU e EAM, sendo considerado a maximização do valor do TPC do resíduo do bagaço de manga, mostrou que todas as variáveis possuem mesma importância, ou seja, mesmo fator de impacto e peso. As condições de extração otimizadas para o resíduo do bagaço foram validadas através da realização das extrações em triplicatas para cada técnica de extração (EAU e EAM), onde foram empregadas as condições de extrações previstas pelo planejamento BBD e de acordo com a metodologia de extração por EAU e EAM, separadamente.

3.3.5 Rendimento de Extração

Os rendimentos dos extratos dos resíduos da manga foram calculados através da equação 2:

$$\text{Rendimento de extração (\%)} = \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{resíduo}}} \times 100\% \quad (2)$$

onde m_{extrato} é a massa de extrato seco (em g) e $m_{\text{resíduo}}$ é a massa do resíduo seco e triturado (em g) utilizado na extração.

3.4 Preparação das Amostras

Para realizar as análises fitoquímicas e no espectrômetro de massas, as amostras foram preparadas utilizando 1 mg do extrato solubilizado em 1 mL de uma solução de etanol (40%). Para as análises antioxidantes (DPPH, ABTS e FRAP), as amostras foram preparadas utilizando 0,1 mg do extrato solubilizado em 1 mL de uma solução de etanol (40%).

3.5 Avaliação Fitoquímica

3.5.1 Avaliação do Conteúdo de Fenólicos Totais

Os valores do conteúdo de fenólicos totais (TPC, do inglês: *total phenolic content*) dos extratos foram avaliados com o uso do reagente de Folin-Ciocalteu e seguindo a metodologia descrita por Luo *et al.* [73], com pequenas alterações. Inicialmente, 25 µL de cada extrato foram colocados em uma placa de poços e adicionado 50 µL do reagente de Follin-Ciocalteu's (10%, v/v, em água) em cada extrato. Após 5 minutos de reação, foi adicionado 100 µL de carbonado de sódio (7,5%, m/v) à mistura e incubada por 1 h a temperatura ambiente (25 ± 1 °C), sob proteção da luz. Após esse tempo, foi medida a absorbância da mistura no comprimento de onda de 765 nm em uma leitora de microplaca, com o TPC sendo expresso como miligrama de equivalente de ácido gálico por grama de material seco (mg EAG/g ms), utilizando uma curva de calibração de ácido gálico (0-200 mg/L). Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

3.5.2 Avaliação do conteúdo de Flavonoides Totais

A avaliação do conteúdo de flavonoides totais (TFC, do inglês: *total flavonoids content*) dos extratos foram realizados através da reação de complexação utilizando o tricloreto de alumínio hexa-hidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) seguindo uma metodologia adaptada para nossas amostras, descrita por Lenucci *et al.* [74]. Inicialmente, 25 µL de cada extrato foram adicionados em uma microplaca de 96 poços e adicionado 25 µL de uma solução aquosa de NaNO_2 (5%, m/v) em cada poço. A placa foi deixada em repouso durante 5 minutos. Posteriormente, foi adicionado 50 µL de uma solução aquosa de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10%, m/v) à mistura e deixado em repouso por 5 minutos. Após este tempo, foi adicionado 200 µL de uma solução aquosa de NaOH (5%, m/v) em cada poço, que continha a mistura reacional, e colocado em repouso por 20 minutos em temperatura ambiente (25 ± 1 °C) e sob proteção da luz. A medição da absorbância foi no comprimento de onda de 510 nm em uma leitora de

microplaca. O TFC foi demonstrado como miligrama de equivalente de catequina por grama de material seco (mg EC/g ms), utilizando uma curva de calibração de catequina (0–300 mg/L). Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão.

3.5.3 Avaliação Antioxidante

3.5.3.1 Método do radical DPPH•

A avaliação antioxidante foi realizada pelo método do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) seguindo procedimentos relatados na literatura [75]. Em seguida, 50 µL de cada extrato foi adicionado em 150 µL da solução de DPPH• (400 µmol/L) em uma microplaca de 96 poços, permanecendo em repouso por 30 minutos e sob proteção da luz. Posteriormente, foi realizada a análise na leitora de microplacas e a absorbância das amostras foram registradas no comprimento de onda de 515 nm. O teste foi realizado em triplicada e acompanhadas de um controle (sem antioxidante), os resultados expressos como média ± desvio padrão.

A redução dos valores de densidade ótica para cada amostra dos extratos foi correlacionada com o do controle e estabelecido o percentual de atividade redutora, expressa pela equação 3:

$$\% \text{ de atividade} = \frac{(Abs_{Controle} - Abs_{Amostra})}{Abs_{Controle}} \times 100 \quad (3)$$

Onde: “Abs amostra” e “Abs controle” são, respectivamente, a absorbância observada na amostra e no sistema (sem antioxidante).

3.5.3.2 Método do radical ABTS•+

A avaliação antioxidante pelo método do radical ABTS•+ [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], foi realizada utilizando as metodologias descritas na literatura, com modificações [76]. A preparação da solução do cátion radicalar ABTS foi preparada 16 horas antes das análises, ao adicionar o persulfato de potássio e solução estoque de ABTS•+. A solução do cátion foi mantida sob proteção da luz no período de 16 horas, antes da análise com os

extratos. Em seguida, essa solução foi diluída em etanol e estabilizado no comprimento de onda (λ) de 734 nm. Após a preparação do reagente foi iniciado a avaliação antioxidante com 30 μ L de cada extrato que foi misturado com 300 μ L da solução de ABTS diluída, mantida em repouso por 6 minutos sob proteção da luz e a leitura foi realizada no comprimento de onda de 734 nm com o auxílio de uma leitora de microplaca. Os resultados para cada extrato foram expressos em percentual de atividade redutora, expressa pela equação 3:

$$\% \text{ de atividade} = \frac{(Abs_{Controle} - Abs_{Amostra})}{Abs_{Controle}} \times 100 \quad (3)$$

Onde: “Abs amostra” e “Abs controle” são, respectivamente, a absorbância observada na amostra e no sistema (sem antioxidante).

3.5.3.3 Método FRAP

Os ensaios pelo método do poder antioxidante redutor férrico (FRAP, do inglês: *Ferric-Reducing Antioxidant Power*), seguiu a metodologia detalhada por Oyaizu *et al.* [77], com algumas modificações. A preparação da solução do reagente FRAP foi por meio de uma mistura de tampão acetato (0,3 mol/L), solução de TPTZ (10 mmol/L) e solução de cloreto férrico (20 mmol/L) na proporção de 10:1:1. Em seguida, foi misturado 9 μ L de cada extrato com 27 μ L de água destilada e 270 μ L do reagente FRAP, seguindo esta ordem e em uma microplaca de 96 poços. Essa mistura foi mantida em repouso sob a proteção da luz a 37 °C durante 30 minutos. Posteriormente, a mistura reacional teve sua absorbância verificada no comprimento de onda de 595 nm com o auxílio de uma leitora de microplaca. A avaliação antioxidante por meio da FRAP de cada extrato foi expressa como micromol de equivalente de Trolox por grama de extrato (μ mol ET/g ex) utilizando de uma curva de calibração de Trolox nas concentrações de 100 a 2000 μ M ($y = 0,9294x + 0,1422$; $R^2=0,993$). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão.

3.6 Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS, do inglês: *High Resolution Mass Spectrometry*)

A preparação das amostras para a análise foi a partir da diluição em metanol de 10 µL da solução de extrato para o volume de 1 mL, onde obtém uma solução com concentração de 50 ppm. As condições de análise utilizadas no modo HESI(-) foram: voltagem do spray de 3,5 kV, aquecimento da região de vaporização de 40 °C, temperatura do capilar de 300 °C, gás auxiliar de 10 ua (sheath gas ua) e sweep gas de 10 ua.

Os espectros de massas foram obtidos na faixa de m/z 100 a 1000 com acúmulo de 100 micro scans e resolução de 140.000 FWHM (m/z 200). O espectro de massas final foi resultante da subtração do espectro do branco e do espectro de massas da amostra. Em seguida, ao obter a aquisição dos dados, o processamento dos espectros e atribuição da fórmula molecular dos íons foi feita empregando o software Xcalibur (versão 3.1, Thermo Fisher Scientific). Desta forma é possível a atribuição de fórmulas moleculares com um erro de até 3 ppm entre o valor de m/z experimental e o valor m/z da fórmula atribuída para o íon.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por se tratar de materiais vegetais, até então, nunca estudados pelo nosso grupo de pesquisa, foi necessária uma pesquisa bibliográfica sobre métodos de tratamento (limpeza, secagem etc) para permitir a obtenção de extratos com maiores rendimentos e ricos nos compostos fenólicos de interesse. Baseado nestes artigos científicos submetemos os materiais obtidos ao processo de limpeza e secagem. Assim, as cascas e o bagaço de manga foram submetidos ao processo de liofilização, trituração e utilização de peneira granulométrica.

Sabendo que ao aumentar a superfície de contato do material vegetal, através da diminuição do seu tamanho de partícula, haverá uma maior difusão do solvente de extração e a obtenção de maiores rendimentos quando comparado a um material que não foi submetido a esta separação granulométrica. Como um dos nossos objetivos era a obtenção de um maior

rendimento do extrato, decidimos seguir este procedimento de forma a otimizarmos todo o processo de extração [78].

Dentre as três peneiras utilizadas, somente foram usadas as partículas que ficaram entre 35 e 60 mesh, 38,42% de massa de cascas liofilizadas e 36,22% de bagaço liofilizado, pois partículas menores ficam suspensas no solvente dificultando o processo de extração dos componentes dos resíduos.

Tabela 5: Percentual de massa dos resíduos após a trituração e peneiração.

Percentual de massa (%)			
	35 – 60 mesh	60 mesh	Total
Casca Liofilizada	38,42	56,73	95,15
Bagaço Liofilizado	36,22	48,25	84,47

4.1 Métodos de Extração

4.1.1 Extração Assistida por Ultrassom

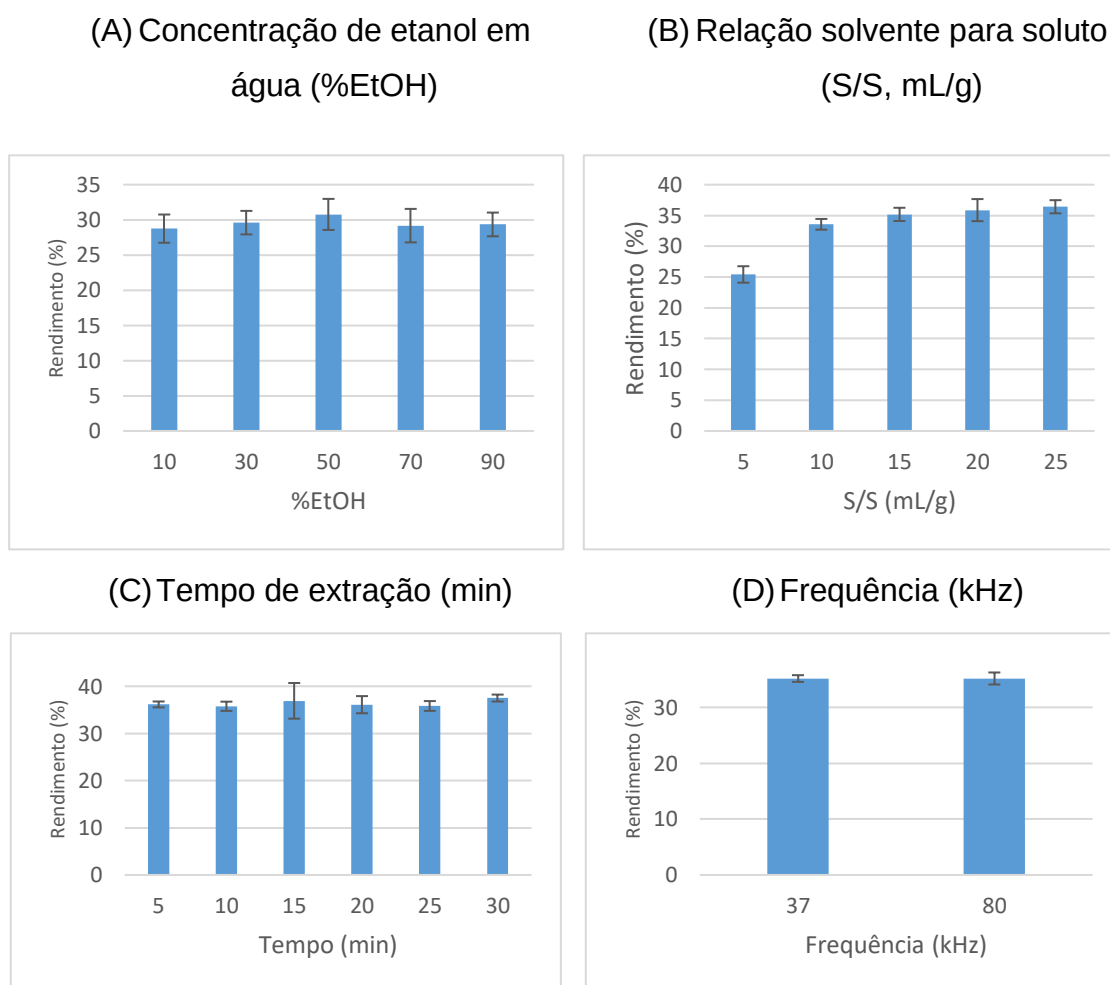
A otimização foi realizada no bagaço da manga com o objetivo de conhecermos quais condições de extração por ultrassom são mais adequadas de forma a obter maior concentração de componentes fenólicos e seus derivados. Vale a pena mencionar que na literatura não consta nenhum procedimento de otimização com ultrassom deste tipo de material.

Os extratos das cascas da manga foram obtidos utilizando a condição ótima de extração determinada para o bagaço, uma vez que o objetivo é poder comparar e verificar quais constituintes químicos estão presentes nos dois resíduos sob as mesmas condições de extração. Isso foi possível através das análises realizadas e pela comparação com dados da literatura dos diversos compostos identificados em extratos da casca da manga [51, 53].

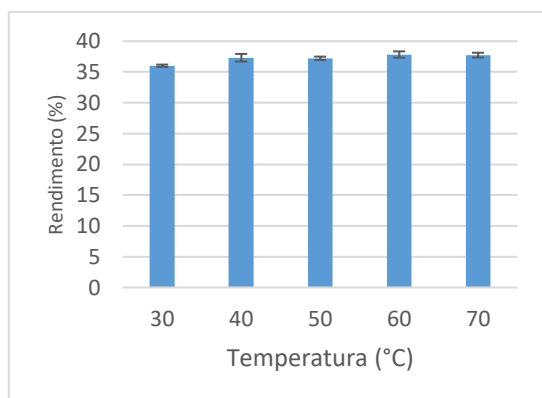
4.1.1.1 Otimização Assistida por Ultrassom no Bagaço da Manga

O planejamento de fator único foi empregado para ter indícios de qual(is) variável(is) independente apresenta(m) resposta(s) significativa(s) na extração dos componentes fenólicos. Seguindo a ordem de extração, na Figura 10, temos os rendimentos obtidos por EAU das amostras do bagaço da manga para cada variável avaliada.

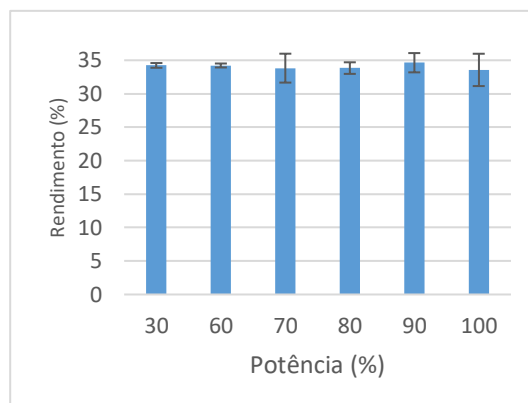
Figura 10 – Gráficos em coluna dos rendimentos da extração assistida por ultrassom do bagaço da manga para cada variável independente: concentração de etanol em água (%EtOH), relação solvente para soluto (S/S, mL/g), tempo de extração (min), frequência (kHz), temperatura (°C) e potência (%).



(E) Temperatura (°C)



(F) Potência (%)



Na variável de concentração de etanol em água, é notado que das cinco soluções avaliadas (10, 30, 50, 70 e 90%) a que apresentou maior rendimento foi a de 50% de etanol, embora as demais amostras não divergiram muito deste valor. Para a relação solvente para soluto (5:0,2; 10:0,2; 15:0,2; 20:0,2 e 25:0,2 mL/g), o rendimento apresentou uma ordem crescente de acordo com o aumento do volume do solvente de extração, isto indica que com o aumento do volume ocorre maior dispersão do soluto no solvente e isto possibilita a obtenção de maiores rendimentos de extração.

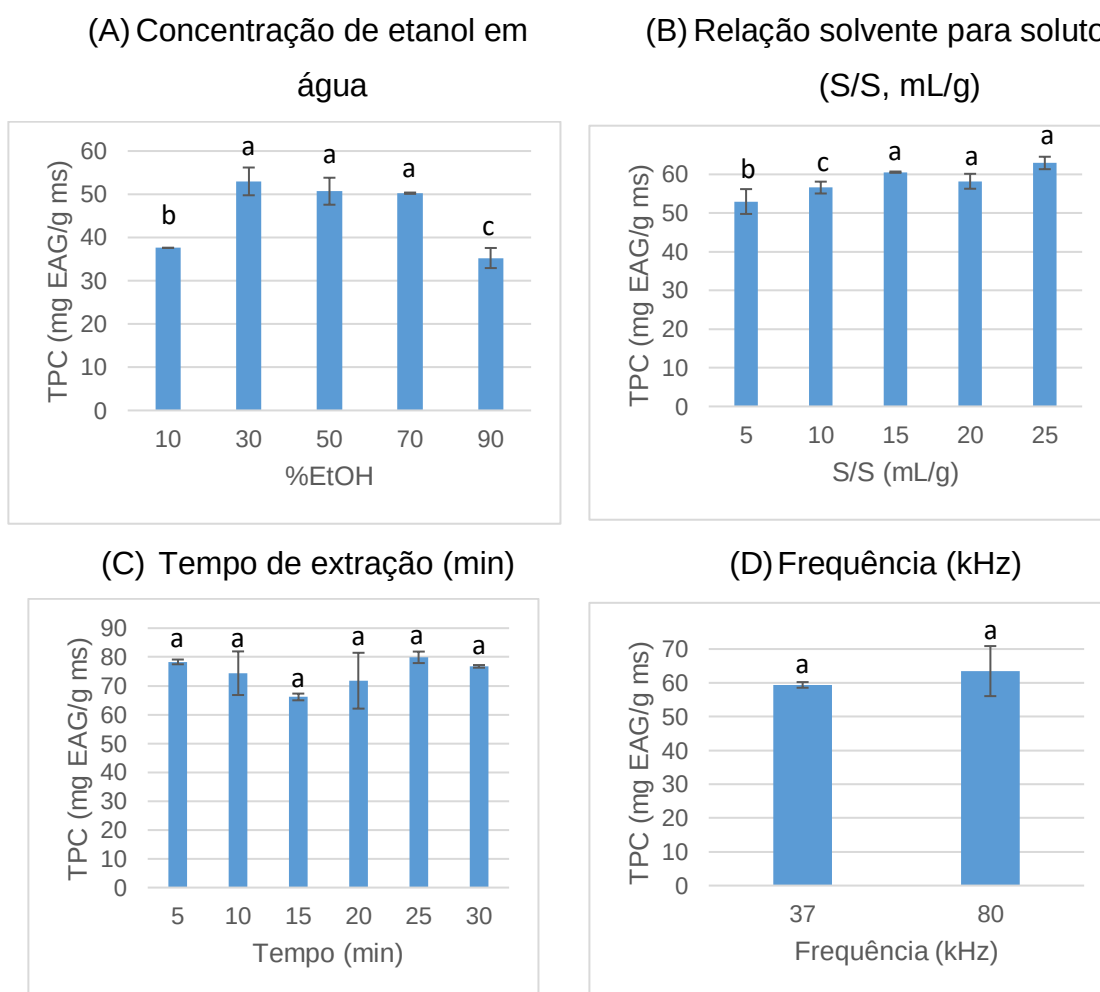
A variação do tempo de extração não provocou grandes diferenças nos valores de rendimentos, sugerindo a não necessidade de se utilizar maiores tempos durante a extração, o que levaria a uma economia de energia. Neste mesmo contexto, percebe-se que a variação da frequência de 37 para 80 kHz não influenciou na modificação dos valores de rendimentos obtidos, uma vez que seus valores foram muito próximos. Assim, além de podermos utilizar um menor tempo para a extração, também poderemos economizar energia com a utilização de uma menor frequência do aparelho.

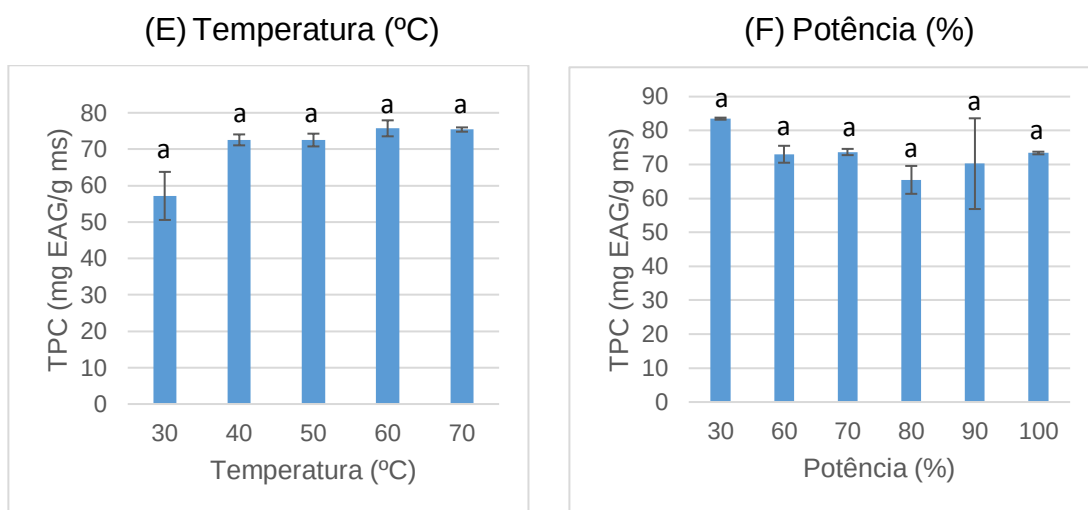
A variação da temperatura também não causou grandes diferenças nos valores dos rendimentos dos extratos. No entanto, pudemos observar um pequeno aumento no rendimento do extrato ao se utilizar a potência 90%, mesmo assim não tão significativo.

A partir destes dados foi feita a determinação de conteúdos fenólicos, o qual servirá como resposta para as extrações e para determinar a condição ótima de extração.

Na Figura 11, encontra-se as respostas dos conteúdos fenólicos para o planejamento de fator único de cada variável.

Figura 11 – Gráfico em coluna dos conteúdos de fenólicos totais (TPC) dos extratos de bagaço de manga obtidos por EAU para cada variável independente: concentração de etanol em água (%EtOH), relação solvente para soluto (S/S, mL/g), tempo de extração (min), frequência (kHz), temperatura (°C) e potência (%). Letras diferentes nas colunas significam que há diferença significativa entre os resultados segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).





A melhor resposta de TPC foi na solução de 30% com resposta de $52,97 \pm 3,21$ mg EAG/g ms, empregando teste de Tukey. No entanto, as amostras com as soluções de 30, 50 e 70% apresentaram semelhanças estatísticas.

Na literatura é relatado que a água atua como um agente que dilata o material vegetal, enquanto o etanol interrompe ligações entre os solutos do material. A água, também, apresenta alta constante dielétrica, o que leva diferentes polaridades nas concentrações de etanol [79]. Portanto, a polaridade do solvente e a solubilidade dos polifenóis do bagaço da manga podem estar relacionados com a melhor resposta de extração dos compostos fenólicos na concentração de 30 % de etanol em água.

Na relação solvente para soluto a melhor resposta foi com 25:0,2 mL/g apresentando $62,95 \pm 1,61$ mg EAG/g ms de fenólicos totais, pelo teste de Tukey, sendo estatisticamente semelhantes as amostras obtidas com 15:0,2; 20:0,2 e 25:0,2 mL/g. Interessante observar o aumento da resposta quando passamos da relação de 5:0,2 a 15:0,2 seguida da diminuição em 20:0,2 e posterior aumento ao atingir 25:0,2 mL/g. Estes resultados podem ser atribuídos a distribuição da densidade de energia ultrassônica nas soluções de extração e ao princípio de transferência de massa. Maiores proporções de solvente para soluto têm maior gradiente de concentração, isso apresenta maior difusão e, conseqüentemente, favorece maior dissolução dos constituintes químicos e maiores valores de conteúdos fenólicos [67, 78].

Na avaliação do tempo de extração, Figura 11(C), o maior valor do conteúdo fenólico ocorreu em 25 minutos resultando em $79,88 \pm 1,99$ mg EAG/g ms. No entanto, em 5 minutos o valor obtido de conteúdo fenólico foi significativo e muito próximo ao de 25 minutos, apresentando $78,29 \pm 0,83$ mg EAG/g ms. O teste de Tukey mostra que todos os resultados do tempo de extração são estatisticamente semelhantes. Desta forma, daremos preferência por utilizar um menor tempo de extração, 5 minutos, na tentativa de evitar a degradação dos componentes bioativos que estejam presentes na nossa matriz, mesmo em detrimento de um menor valor de rendimento [Figura 10(C)], o qual não compensa o custo com energia e processamento [12].

As duas frequências (37 e 80 kHz) avaliadas apresentaram valores de conteúdos fenólicos próximos, respectivamente, $59,39 \pm 0,83$ e $63,47 \pm 7,41$ mg EAG/g ms, sendo estatisticamente caracterizadas como semelhantes pelo teste de Tukey. A menor frequência, de 37 kHz, será a escolhida para a extração já que menores frequências formam bolhas de cavitação maiores provocando eclosões mais violentas e, conseqüentemente, processos de extrações mais eficientes [12, 80].

Nas cinco temperaturas avaliadas nas extrações (30, 40, 50, 60 e 70 °C), é notado que ocorreu um aumento gradativo de componentes fenólicos com o aumento da temperatura. Isto pode estar relacionado com o aumento da difusividade do solvente nas células e ao aumento da dessorção e solubilidade. No entanto, temperaturas maiores podem degradar alguns compostos voláteis e sensíveis à temperatura [12], por isso será utilizada a temperatura de 40 °C, a qual gerou um valor de TPC de $72,57 \pm 1,50$ mg EAG/g ms. Uma observação interessante é que nesta temperatura a água utilizada no banho ultrassônico não irá evaporar rapidamente e menos desperdício ocorrerá. O teste de Tukey demonstrou que todas as temperaturas avaliadas são estatisticamente semelhantes, exceto 30°C.

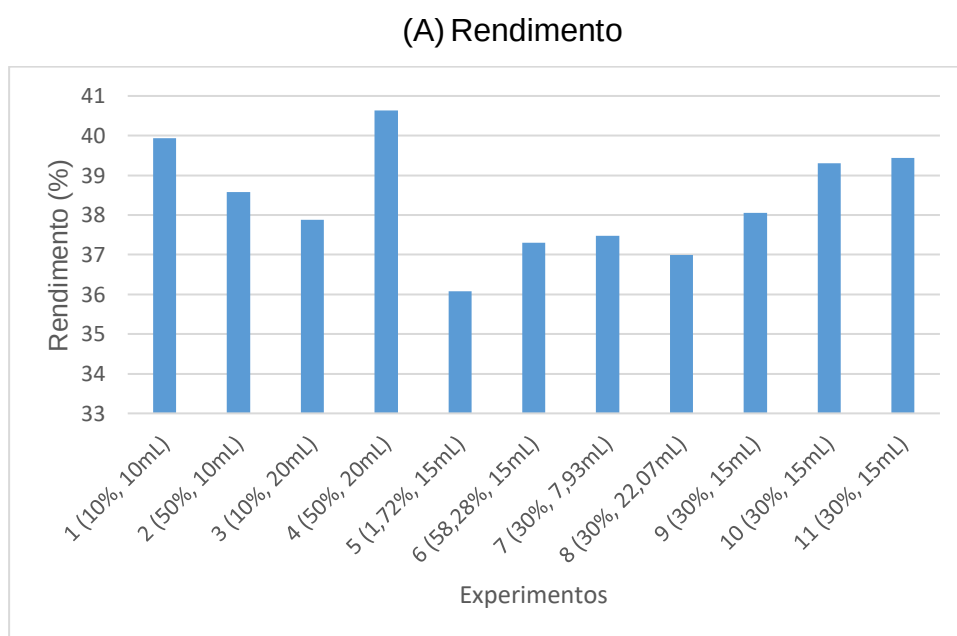
O aumento da variável potência resultou no decréscimo de valores de conteúdos fenólicos, com melhor valor de TPC, $83,50 \pm 0,30$ mg EAG/g ms, sendo obtido ao se utilizar a menor potência, 30%. Pelo teste de Tukey todos os valores obtidos são estatisticamente semelhantes. Potências maiores causam a

formação de bolhas de cavitação rapidamente e com maiores tamanhos, isso causa a degradação dos compostos químicos que são extraídos das matrizes celulares, podendo levar a degradação dos compostos fenólicos de interesse [12, 66].

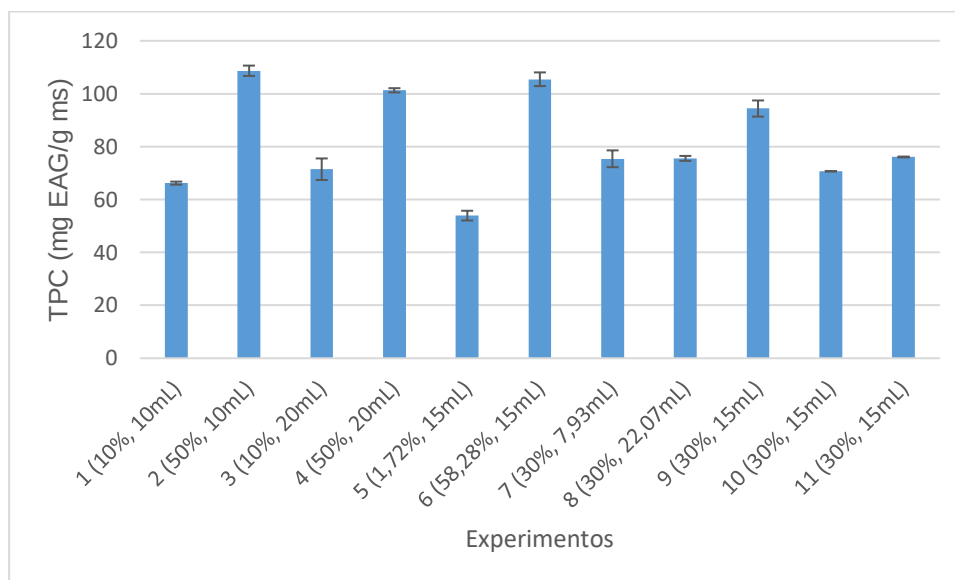
De acordo com os resultados de conteúdos fenólicos totais e pelo teste de Tukey, as condições de extração das variáveis determinadas são de 30% de concentração de etanol em água, 15:0,2 mL/g para a relação solvente para soluto, 5 minutos para o tempo de extração, 37 kHz de frequência, temperatura de 40 °C e potência de 30%. Entretanto, é notório que as variáveis de concentração de etanol em água e de relação solvente para soluto apresentam mais influências no rendimento e na determinação de conteúdos fenólicos totais.

Assim, a partir destes dados se pode determinar o intervalo das variáveis de concentração de etanol em água (entre 10, 30 e 50%) e relação solvente para soluto (entre 10:0,2; 15:0,2 e 20:0,2 mL/g) enquanto mantém-se as outras variáveis fixas. Com isso foi empregado um planejamento composto central que apresentou 11 experimentos (Tabela 2), resultando nos valores de rendimento e conteúdo de fenólicos totais apresentados na Figura 12 (A e B).

Figura 12 – Gráfico em coluna do rendimento e respostas do conteúdo de fenólicos totais dos experimentos do planejamento composto central, segundo a Tabela 2.



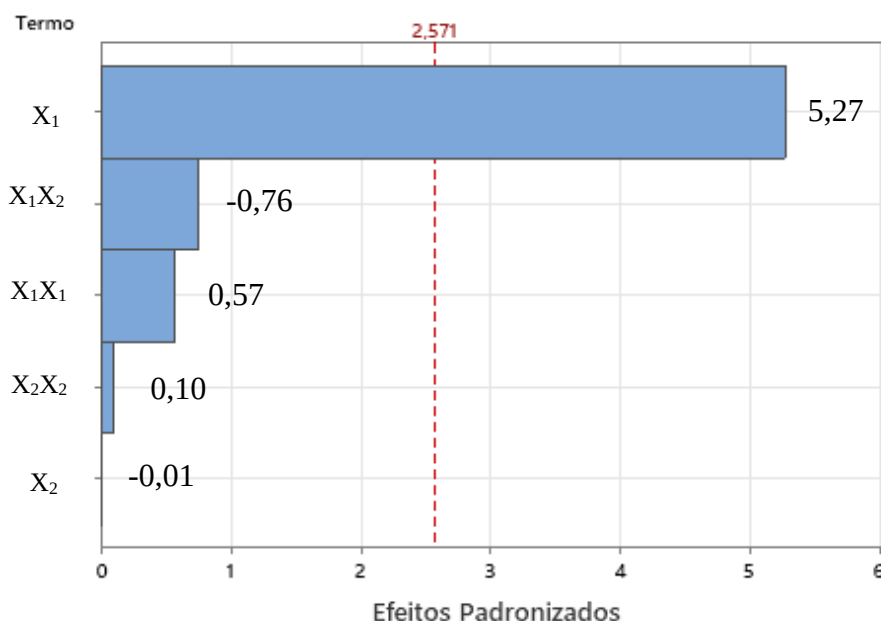
(B) Conteúdo Fenólicos Totais



O maior rendimento (40,637%) foi obtido ao se utilizar 50% de concentração de etanol em água e relação solvente para soluto de 20:0,2 mL/g. Para o conteúdo de fenólicos totais os melhores valores foram de 108,68 (50% da concentração de etanol e relação solvente para soluto de 10:0,2 mL/g) e 105,47 mg EAG/g ms (58,28% de concentração de etanol e relação solvente para soluto de 15:0,2 mL/g). Para determinar a condição ótima de extração foram utilizados o gráfico de Pareto e a metodologia de superfície de resposta.

Como observado na Figura 12, os valores dos rendimentos variam de 36,07 a 40,64% enquanto os valores dos conteúdos de fenólicos totais de 53,91 a 108,68 mg EAG/g ms. Esta variação sugere a influência de alguma variável nas respostas avaliadas, considerando as condições extração utilizadas. Entretanto, para se avaliar a variável que apresenta influência significativa nas respostas utilizamos o gráfico de Pareto (Figura 13), que apresenta os termos significativos ($p < 0,05$) referentes às variáveis independentes (concentração de etanol em água e relação solvente para soluto), e o efeito relativo (positivo ou negativo) para cada valor do conteúdo de fenólicos totais.

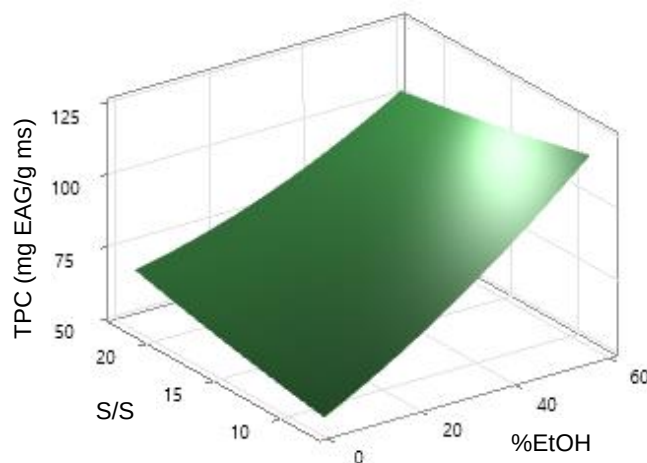
Figura 13 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados estimados das variáveis concentração de etanol (A) e a relação solvente para soluto (B) no conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) dos extratos do bagaço da manga obtidos por EAU.



No gráfico de Pareto, a variável que ultrapassa a linha em vermelho é que apresenta influência significativa na extração. Assim, somente a concentração de etanol em água apresenta influência significativa no processo de extração do bagaço da manga para a obtenção de compostos fenólicos. No gráfico, o valor positivo (5,27) demonstra que o aumento da composição do etanol no solvente favorece a extração dos compostos fenólicos.

Na Figura 14 é apresentado o gráfico de superfície de resposta das variáveis independentes (concentração de etanol e relação solvente para soluto) e da variável dependente (conteúdo dos fenólicos totais).

Figura 14 – Gráfico de superfície de resposta dos efeitos da relação solvente soluto (S/S) e concentração de etanol em água (%EtOH) no conteúdo fenólicos totais (TPC) dos extratos do bagaço da manga por EAU.



De acordo com o gráfico de superfície de resposta pode ser visualizado o efeito significativo da concentração de etanol em água ao conteúdo de fenólicos totais. É notório o aumento do TPC com o aumento gradativo de etanol na solução de extração, de 1,72 a 58,28%, podendo estar relacionado com a composição química dos componentes que foram extraídos. Estes apresentam semelhanças na polaridade dos compostos com a solução extratora, já que o etanol aumenta a solubilidade de compostos fenólicos, enquanto a água acelera sua dessorção [81, 82]. Wang *et al.* [81], investigaram a espécie *Abelmoschus esculentus* por EAU e notaram comportamento semelhante na extração de componentes fenólicos no aumento da porcentagem de etanol na solução de extração, de 50 a 70% de etanol.

Na Tabela 6, são apresentados os valores obtidos por meio da análise de variância para a resposta de conteúdo de fenólicos totais. Os termos que resultaram em efeito significativo ($p < 0,05$) estão destacados com asterisco (*), o que corrobora os observados no gráfico de Pareto (Figura 13).

Tabela 6: Análise de variância (ANOVA) para o modelo polinomial quadrático proposto para a resposta do conteúdo de fenólicos totais obtido por EAU para o resíduo de bagaço de manga. Os efeitos significativos ($p < 0,05$) estão marcados com asterisco (*).

Fonte	SQ	GL	MQ	F-Valor	<i>p</i> -Valor
Modelo	2621,39	5	524,28	5,74	0,039*
X ₁ (%EtOH)	2538,61	1	2538,61	27,81	0,003*
X ₂ (S/S)	0,01	1	0,01	0,00	0,994
X ₁ X ₁	30,13	1	30,13	0,33	0,590
X ₂ X ₂	0,88	1	0,88	0,01	0,926
X ₁ X ₂	52,14	1	52,14	0,57	0,484
Erro	456,46	5	91,29		
Falta de ajuste	177,62	3	59,21	0,42	0,757
Erro puro	278,84	2	139,42		
SQ Total	3077,85	10			
R ²	0,8517				
R ² _{ajustado}	0,7034				

SQ: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: média dos quadrados; R²: coeficiente de determinação.

Ao considerar a ANOVA (Tabela 6), o modelo matemático desenvolvido foi considerado significativo (F-Valor de 5,74 e *p*-valor de 0,039). No modelo proposto observou-se um bom ajuste em relação às respostas observadas, já que seu valor de coeficiente de determinação ($R^2 = 0,8517$), que explica 85,17% da variação dos dados de TPC e pode ser utilizada para explicar o modelo proposto, demonstra um bom ajuste do modelo à resposta uma vez que está próximo de 1.

De acordo com a análise de regressão, a relação entre as variáveis independentes e o conteúdo de fenólicos totais, a equação polinomial quadrática pode ser descrita (Equação 4).

$$\text{TPC (Y)} = 45,8 + 1,086 X_1 + 0,60 X_2 + 0,0058 X_1X_1 + 0,016 X_2X_2 - 0,0361 X_1X_2 \quad (4)$$

Onde a variável codificada X_1 é a concentração de etanol e X_2 a relação solvente para soluto.

De acordo com o ajuste e os cálculos matemáticos, neste trabalho, teoricamente o maior valor de conteúdos de fenólicos totais será, aproximadamente, de 117,8 mg EAG/g ms e deve ser extraído com a concentração de etanol em água de 58,28% e relação solvente para soluto de 7,929 mL para 0,2 gramas de bagaço de manga, sendo está a condição ótima de extração de TPC para o resíduo industrial de bagaço de manga e com as outras variáveis fixas.

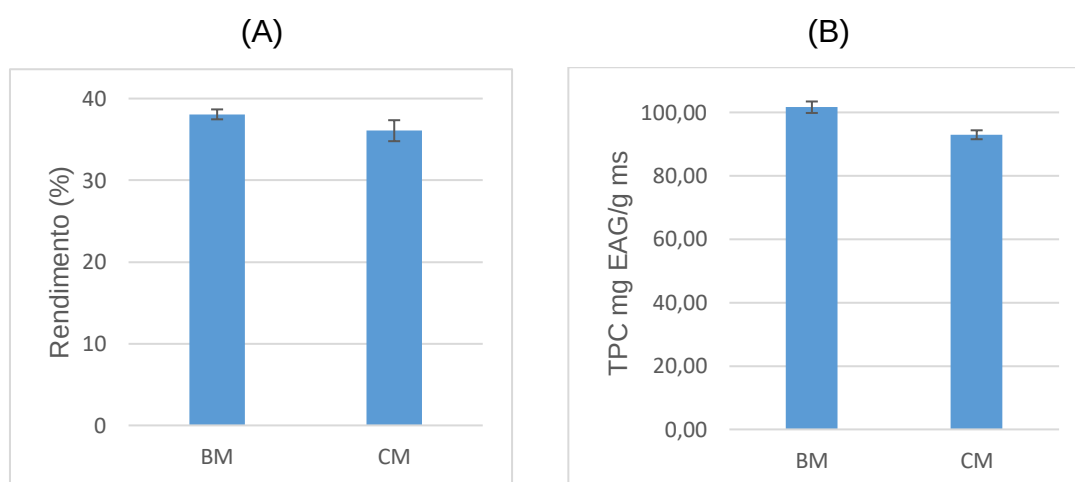
Ao realizar a extração com as condições de extração determinadas teoricamente, foi possível se obter o rendimento e o conteúdo de fenólicos totais que estão expressos na Figura 15 (A e B), os quais foram realizados em triplicatas. O resultado de rendimento e TPC para o extrato do bagaço de manga foram, respectivamente, de 38,07% e 101,63 mg EAG/g ms. Este último não correspondendo ao predito, que foi de 117,8 mg EAG/g ms, de acordo com a literatura este resultado é possível, Weremfo et al. extraiu componentes fenólicos da baga de peru (*Solanum torvum*), o valor predito de TPC foi de 192,33, enquanto o experimental foi de 189.67 mg EAG/g de material seco do fruto, e Ahmed et al., obteve TPC experimental de 370, sendo o predito de 345,09 mg AGE/100 g de matéria seca dos frutos de cajá (*Spondias pinnata* L. f. kurz), outro estudo de Muchahary et al., sobre a extração de TPC da flor da banana bhimkol (*Musa balbisiana*), o previsto foi de 1938,29 e o experimental foi de 1898,20 mg EAG/100 g [83, 84, 85]. Estes dados demonstram que o valor de TPC pode variar para valores acima ou abaixo do predito, sendo que esteja próximo do valor determinado pelo planejamento aplicado.

Para as cascas de manga, ao empregar a condição ótima o rendimento foi de 36,07% e o conteúdo de fenólicos totais foi de 92,95 mg EAG/g ms, sendo

valores menores do que os extratos do bagaço. Ojeda *et al.* [86], utilizou um gerador de ultrassom e realizou o planejamento composto central, sendo as condições otimizadas foram tempo de 6,5 minutos, amplitude 60% e concentração de etanol de 46% para extrair das cascas de manga componentes fenólicos que resultou experimentalmente em 81,582 mg EAG/g ms, o predito foi de 86,081.

Ao utilizar a condição ótima de extração obtida para o bagaço nas amostras de cascas de manga, o valor de TPC obtido foi maior do que apresentado na literatura, isto corrobora na eficiência de extração de conteúdo de fenólicos totais ao utilizar o procedimento experimental obtido neste trabalho.

Figura 15 – Gráficos em coluna dos rendimentos (A) e do conteúdo de fenólicos totais (B) da EAM do bagaço (BM) e cascas (CM) de manga.



Assim, de acordo com os experimentos e dados matemáticos, a condição ótima de extração de fenólicos para o bagaço da manga ocorrem na concentração de etanol em água de 58,28%; relação solvente para soluto de 7,929:0,2 mL/g; tempo de extração de 5 minutos; frequência de 37 kHz; temperatura de 40 °C e potência de 30%.

4.1.2 Extração Assistida por Micro-ondas

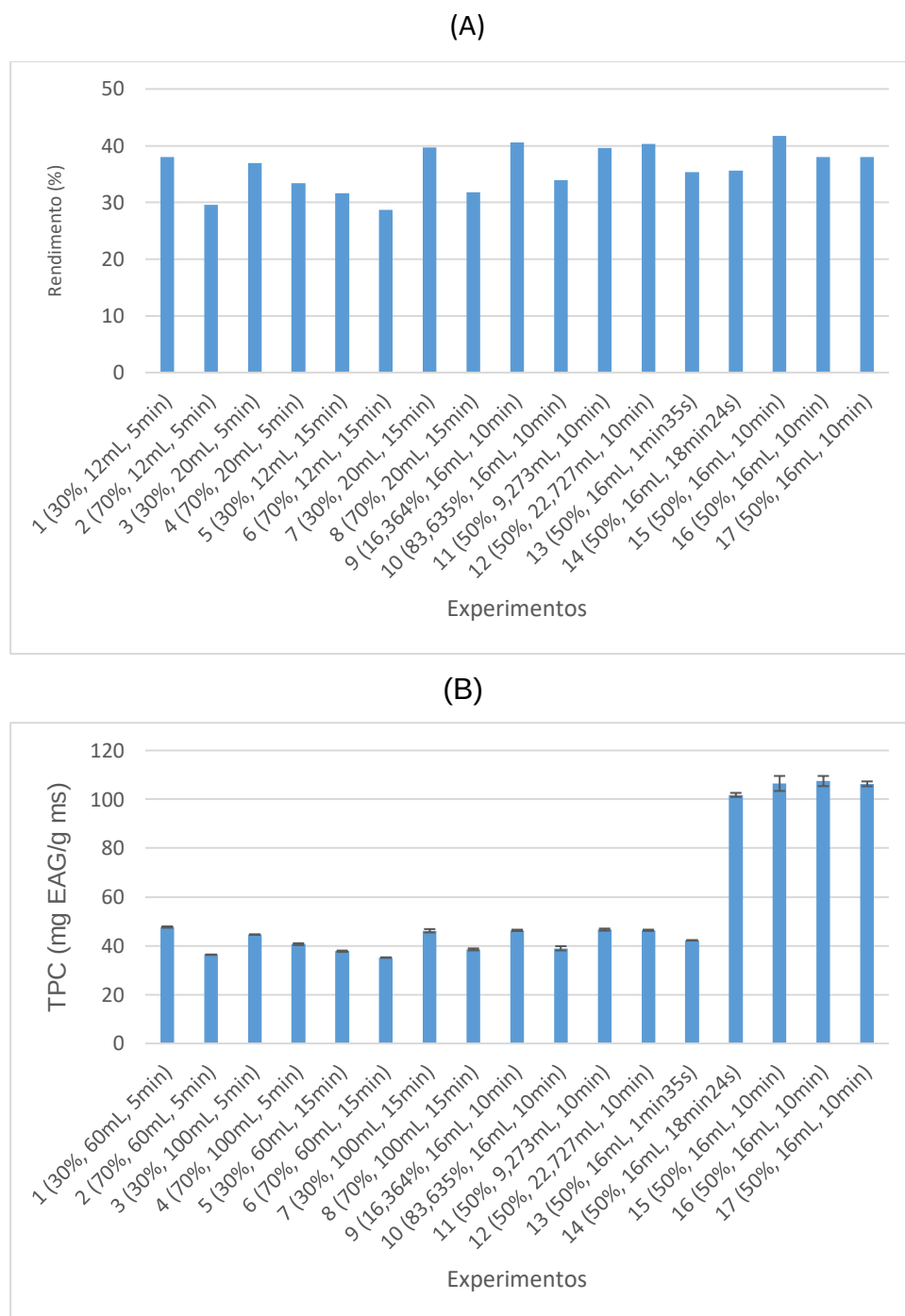
O procedimento de otimização da extração por micro-ondas foi realizado no bagaço de manga com o objetivo de determinar as condições de extração adequadas para obter a maior concentração de compostos fenólicos e seus derivados. De forma semelhante ao que ocorre com as análises com ultrassom, não há relatos na literatura desde procedimento de otimização ao empregar o planejamento composto central com a extração assistida por micro-ondas na extração de componentes fenólicos do resíduo industrial de bagaço de manga.

Para a casca de manga, será aplicada a condição ótima determinada no bagaço, com o objetivo de comparar e determinar os compostos químicos presentes nos dois resíduos. Isso ocorrerá por meio da comparação com dados da literatura e das nossas análises experimentais.

4.1.2.1 Otimização Assistida por Micro-ondas no Bagaço da Manga

Através do planejamento composto central foi determinado 17 pontos experimentais, onde as extrações foram realizadas de forma aleatória, na Figura 16, é demonstrado em gráfico de colunas o rendimento [Figura 16(A)] e o conteúdo de fenólicos totais [Figura 16(B)], obtidos por EAM das amostras do bagaço da manga para cada ponto experimental.

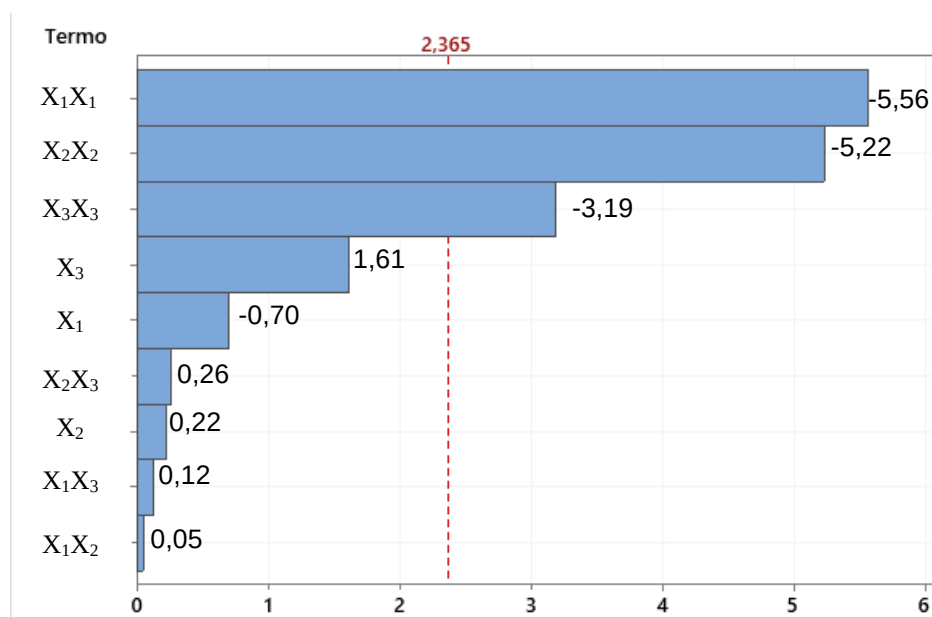
Figura 16 – Gráficos em coluna dos rendimentos (A) e do conteúdo de fenólicos totais (B) da extração assistida por micro-ondas do bagaço de manga dos 17 pontos experimentais obtidos pelo planejamento CCD empregando as variáveis: concentração de etanol em água (%EtOH), relação solvente para soluto (S/S, mL/g) e tempo de extração (min), segundo a Tabela 4.



Através da Figura 16(A), é possível determinar que os maiores rendimentos foram obtidos nos pontos experimentais 9 (16,364% EtOH, 16 mL e 10 minutos), 12 (50% EtOH, 22,727 mL e 10 minutos) e 15 (50% EtOH, 16 mL e 10 minutos), respectivamente, 40,539, 40,310 e 41,725%, sendo o maior rendimento obtido no experimento 15, um dos pontos centrais. Para o conteúdo de fenólicos totais, Figura 16(B), os maiores valores foram obtidos com os experimentos 14 (50% EtOH, 16 mL e 18 minutos e 24 segundos), 15 (50% EtOH, 16 mL e 10 minutos), 16 e 17 (50% EtOH, 16 mL e 10 minutos), respectivamente, 101,80; 106,49; 107,47 e 106,33 mg EAG/g ms, onde o maior TPC é encontrado no experimento 16, que é um dos pontos centrais. Estes resultados demonstram que a condição ótima de extração está próxima da condição de extração utilizada no ponto central, que são concentração de etanol de 50%, o volume de 16 mL e 10 minutos de tempo de extração.

A partir dos resultados do conteúdo de fenólicos totais obtidos nos 17 pontos experimentais (Figura 16), é possível sugerir que uma ou mais variáveis da extração (concentração de etanol, relação solvente por soluto e tempo) apresentam influência significativa durante o procedimento de extração. Para avaliar qual(is) variável(is) apresenta influência significativa nas respostas, foi utilizado o gráfico de Pareto (Figura 17), onde apresenta os termos significativos ($p < 0,05$) referente as três variáveis e o efeito relativo (positivo ou negativo) para os valores do conteúdo de fenólicos totais.

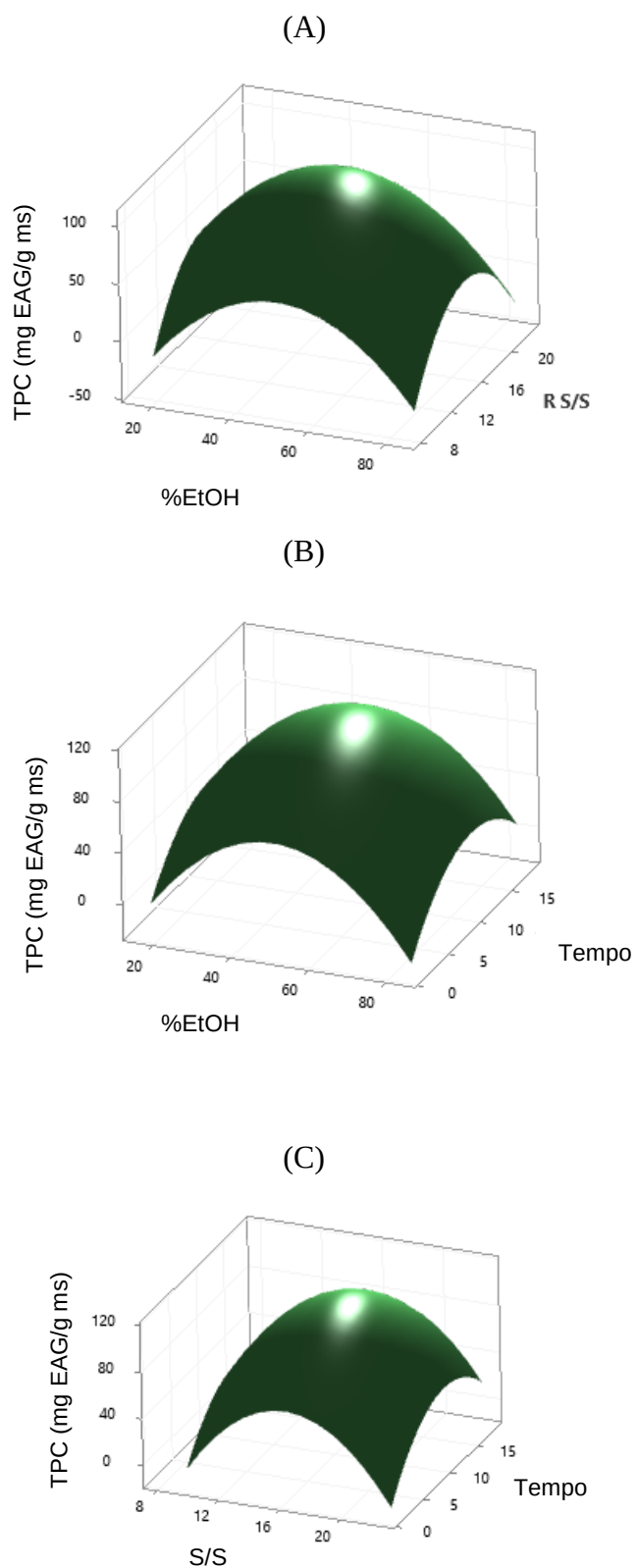
Figura 17 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados estimados das variáveis concentração de etanol (A), relação solvente para soluto (B) e tempo de extração (C) no conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) dos extratos do bagaço da manga obtidos por EAM.



Pelo gráfico de Pareto observamos que as variáveis que apresentam influência significativa no processo de extração são os termos quadráticos das três variáveis, concentração de etanol (X_1X_1), relação solvente por soluto (X_2X_2) e tempo (X_3X_3). Os demais termos não apresentaram significância no processo de extração. Os valores negativos (X_1X_1 : -5,56; X_2X_2 : -5,22 e X_3X_3 : -3,19) significam, respectivamente, que a diminuição das variáveis composição do etanol no solvente, relação solvente para soluto e o tempo favorecem a extração dos compostos fenólicos.

O gráfico de superfície de resposta, é demonstrado na Figura 18, onde é ilustrado o efeito das variáveis no conteúdo dos fenólicos totais dos extratos de bagaço de manga obtidos por EAM analisando-se as três variáveis.

Figura 18 – Gráfico de superfície de resposta dos efeitos do conteúdo fenólicos totais (TPC) *versus* %EtOH *versus* S/S (A), %EtOH *versus* Tempo (min) (B) e S/S *versus* Tempo (min) (C) dos extratos do bagaço da manga por EAU (%EtOH: concentração de etanol em água e S/S: relação solvente para soluto).



Ao analisar o gráfico de superfície de resposta, Figura 18, é notado o efeito quadrático significativo, devido a curvatura que o gráfico apresenta, uma forma hemisférica. Nos três gráficos, Figura 18(A, B e C), é notado que o maior valor de conteúdo de fenólicos totais é determinado no ponto máximo da curvatura, na região próxima da concentração de etanol 50%, tempo de 10 minutos e relação solvente para soluto de 16 mL e 0,2 g de material seco, estas condições são as mesmas do ponto central e indicam que a condição ótima está próxima desses valores. Outros estudos também apresentam as mesmas conclusões na recuperação de TPC ao utilizar as variáveis de concentração de etanol, tempo e relação solvente para soluto, como no subproduto do pó da erva de tomilho selvagem (*Thymus serpyllum* L.), que empregou o planejamento CCD e apresentou condição ótima de extração de 48% de etanol, relação solvente para soluto de 0,0402g/mL e tempo de extração de 86 segundos, resultando no TPC de 58,1 mg AGE/L [87].

Na Tabela 7, são apresentados os valores obtidos por meio da análise de variância para a resposta de conteúdo de fenólicos totais. Os termos que resultaram em efeito significativo ($p < 0,05$) estão destacados com asterisco (*).

Tabela 7: Análise de variância (ANOVA) para o modelo polinomial quadrático proposto para a resposta do conteúdo de fenólicos totais obtido por EAU para o resíduo de bagaço de manga. Os efeitos significativos ($p < 0,05$) estão marcados com asterisco (*).

Fonte	SQ	GL	MQ	F-Valor	p-Valor
Modelo	10859,8	9	1206,64	5,42	0,018*
X ₁ (%EtOH)	109,2	1	109,25	0,49	0,506
X ₂ (S/S)	11,0	1	10,99	0,05	0,830
X ₃ (Tempo)	579,9	1	579,91	2,61	0,151
X ₁ X ₁	6873,5	1	6873,46	30,89	0,001*
X ₂ X ₂	6074,5	1	6074,47	27,29	0,001*
X ₃ X ₃	2263,7	1	2263,72	10,17	0,015*
X ₁ X ₂	0,5	1	0,53	0,00	0,962
X ₁ X ₃	3,4	1	3,38	0,02	0,905
X ₂ X ₃	15,2	1	15,20	0,07	0,801
Falta de ajuste	1557,8	5	311,56	13498,70	0,000
Erro puro	0,0	2	0,02		
SQ Total	12417,6	16			
R ²	0,8745				
R ² _{ajustado}	0,7132				

SQ: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: média dos quadrados; R²: coeficiente de determinação.

De acordo com a ANOVA (Tabela 7), o modelo matemático desenvolvido foi considerado significativo (F-Valor de 5,42 e p -valor de 0,018), pois no modelo proposto foi observado um bom ajuste em relação às respostas obtidas, devido ao seu valor de coeficiente de determinação ($R^2 = 0,8745$), que explica 87,45%

da variação dos dados de TPC e pode ser utilizada para explicar o modelo proposto.

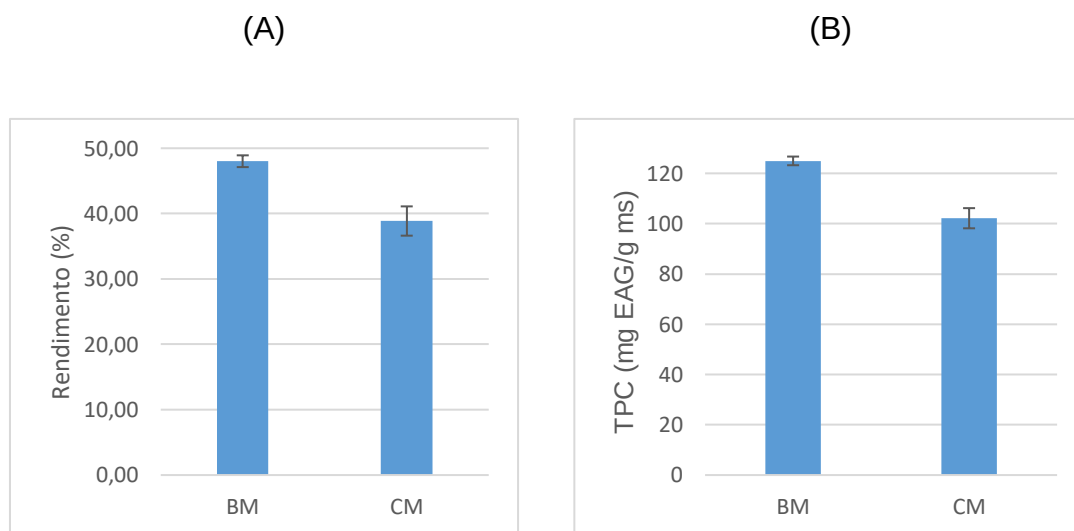
De acordo com a análise de regressão, a relação entre as variáveis independentes e o conteúdo de fenólicos totais, a equação polinomial quadrática pode ser descrita (Equação 5).

$$\text{TPC (Y)} = -468 + 5,91 X_1 + 9,16 X_2 + 11,21 X_3 + 0,0006 X_1X_2 + 0,0065 X_1X_3 + 0,0138 X_2X_3 - 0,0617 X_1^2 - 0,058 X_2^2 - 0,567 X_3^2 \quad (5)$$

Onde a variável codificada X_1 é a concentração de etanol, X_2 a relação solvente para soluto e X_3 o tempo de extração.

De acordo com os dados obtidos, ao realizar o ajuste e os cálculos matemáticos o maior valor de conteúdo de fenólicos totais, teoricamente, é obtido com a concentração de etanol de 48,981%, tempo de 11 minutos e 6 s e a relação solvente para soluto de 16 mL e 0,2 g, com TPC predito de 107,63 mg EAG/g ms para o bagaço de manga.

Figura 19 – Gráficos em coluna dos rendimentos (A) e do conteúdo de fenólicos totais (B) da EAM do bagaço (BM) e cascas (CM) de manga.



Na Figura 19, é apresentado em gráfico de coluna o rendimento e o TPC experimental ao empregar a condição ótima de extração, onde resultou para o bagaço de manga o rendimento de 48,01% e TPC de 124,96 mg EAG/g ms, este

resultado está de acordo com o predito, já que seu valor de TPC está próximo do valor teórico calculado. Para as cascas de manga o rendimento foi de 38,86% e 102,16 mg AGE/g ms. Sánchez-Correa *et al.* [88], realizou a extração de componentes fenólicos com uma pré-extração por supercritical CO₂ e uma otimização por micro-ondas que resultou na obtenção de TPC de 52,08 mg EAG/g ms.

A partir desses resultados dos experimentos e dados matemáticos, a condição ótima de extração de fenólicos através da extração assistida por ultrassom para o bagaço da manga ocorre na concentração de etanol em água de 48,981%, tempo de 11 minutos e 6 s, relação solvente para soluto de 16 mL e 0,2 g, com temperatura de 84 °C e potência de 500W.

4.1.3 Comparação entre Métodos de Extração

Para indicar qual a técnica de extração é mais eficiente na extração de conteúdo de fenólicos totais, é realizada a comparação entre as técnicas de extração assistida por ultrassom e micro-ondas, como também a comparação com a técnica de maceração, uma vez que esta é uma técnica clássica e muito utilizada em processos de extrações de componentes fenólicos e seus derivados.

4.1.3.1 Comparação entre EAU e Maceração

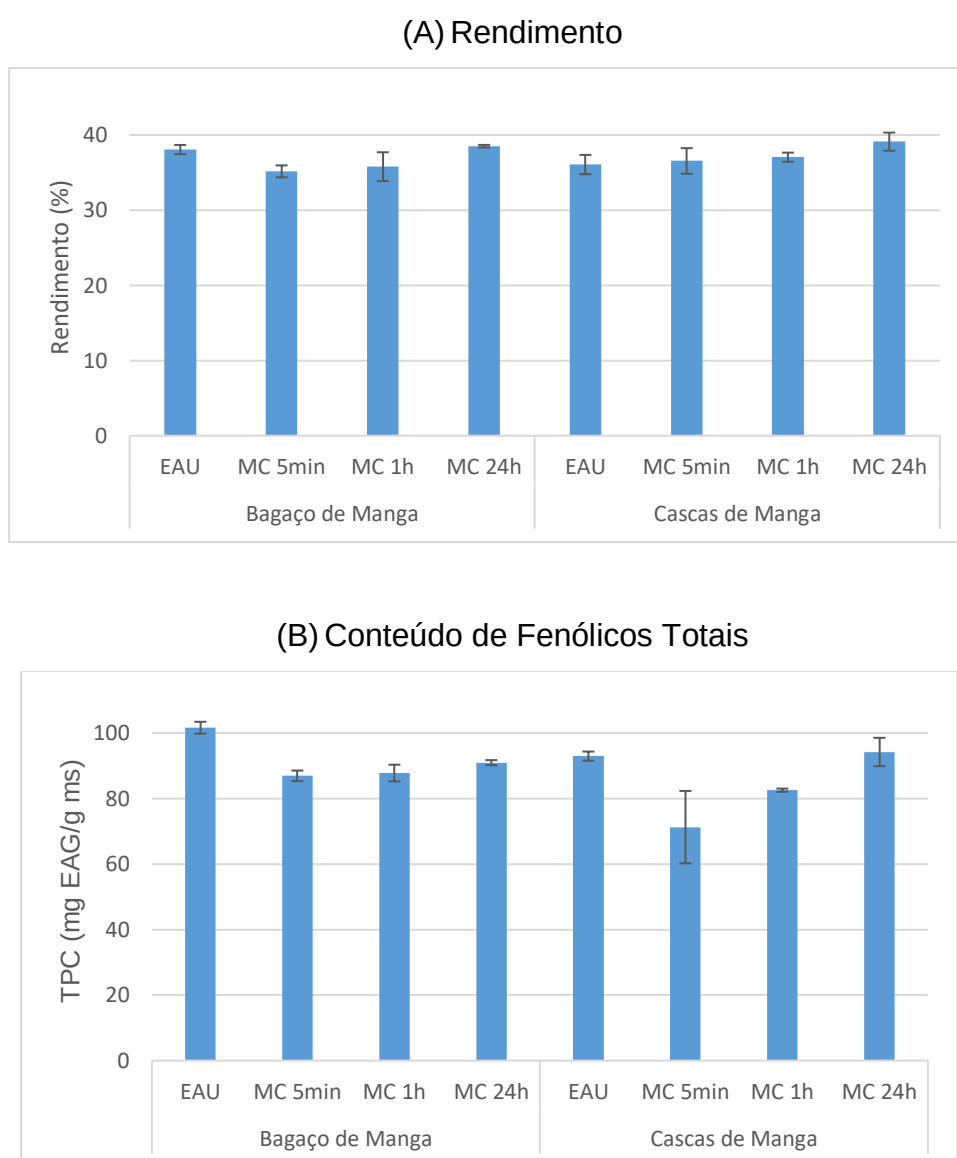
A partir da determinação da condição ótima de extração, as amostras do bagaço e das cascas de manga foram submetidas a estas condições de extração para avaliar o comportamento do valor do conteúdo de fenólicos totais (TPC) empregando a EAU, realizadas em triplicatas.

Na Figura 20 (A e B) encontra-se os rendimentos e o teor de conteúdo de fenólicos do bagaço e das cascas da manga obtidos por EAU, obtendo-se um rendimento de 38,07% para o extrato de bagaço e 36,07% para as cascas. Percebe-se que são valores próximos.

Para o conteúdo de fenólicos totais [Figura 20(B)], o extrato do bagaço apresentou um valor de 101,63 mg EAG/g ms, enquanto para as cascas da

manga foi obtido 92,95 mg EAG/g ms. Guerra *et al.* [89] relataram um valor de TPC para extrato da casca da manga de 21,25 mg EAG/g, utilizando EAU nas seguintes condições ótimas: concentração de etanol em água de 50%, relação solvente para soluto de 8:0,02 mL/g, frequência de 40 kHz, potência de 123W, temperatura 60°C e tempo de extração 60 minutos.

Figura 20 – Gráfico em coluna do rendimento (%) (A) e do conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) (B) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAU e pela extração por maceração nos tempos de 5 minutos, 1 hora e 24 horas.



Pelos gráficos percebe-se, então, que o valor de TPC obtido em nosso trabalho foi muito superior ao obtido por este estudo da literatura, evidenciando uma melhora na recuperação dos compostos fenólicos a partir dos estudos realizados. Nossa sugestão é que possa ter havido uma possível degradação dos compostos fenólicos extraídos nas amostras das cascas relatado por Guerra *et al.* [89], pois em seu trabalho foi utilizado um tempo de 60 minutos de extração enquanto no nosso utilizamos um tempo bem menor, 5 minutos. Além disso, o extrato do bagaço apresentou um maior valor de TPC quando comparado ao extrato das cascas da manga, nos incentivando a continuar o estudo deste resíduo que, certamente, ainda tem muita utilidade do ponto de vista químico e biológico.

Na Figura 20(A) também estão presentes os rendimentos para os extratos obtidos por maceração, que foram realizadas em duplicatas, utilizando os tempos de extração de 5 minutos, 1 hora e 24 horas, resultando nos rendimentos de 35,16; 35,79 e 38,51% para o bagaço e de 36,55; 37,05 e 39,12% para as cascas, respectivamente. Nota-se o aumento do rendimento com o aumento do tempo de extração, no entanto a variação não foi muito significativa entre elas. Vale mencionar que o rendimento obtido para o extrato preparado por EAU do bagaço de manga foi de 38,07% (5 minutos de tempo de extração) sendo comparável ao do extrato obtido por maceração utilizando, no entanto, 24 horas. O rendimento por EAU obtido pelas cascas foi de 36,07%, sendo maior do que o da maceração, 36,55%, extraído com o mesmo tempo de extração de 5 minutos. No entanto, ainda foi menor do que os obtidos por maceração utilizando um tempo de extração de 1 hora (37,05%) e de 24 horas (39,12%).

Os valores obtidos para o conteúdo de fenólicos totais (TPC) para o bagaço de manga foram de 86,93 (MC-5min); 87,78 (MC-1h) e 90,96 mg EAG/g ms (MC-24h), ocorrendo também um aumento dos valores com o aumento do tempo de extração. No entanto, para a amostra de EAU-Bagaço de Manga (5 minutos de extração) o valor de TPC foi de 101,63 mg EAG/g ms, resultando em um valor maior quando comparado a todos os obtidos por maceração.

Para as cascas de manga, o conteúdo de fenólicos totais (TPC) resultou nos valores de 71,26 (MC-5min); 82,55 (MC-1h) e 94,20 mg EAG/g ms (MC-24h),

também ocorrendo o aumento gradativo com o maior tempo de extração. Entretanto, o valor de TPC para a amostra de EAU-Cascas de Manga (5 minutos) foi de 92,95 mg EAG/g ms, sendo comparável com a extração de 24 horas por maceração que resultou em 94,20 mg EAG/g ms.

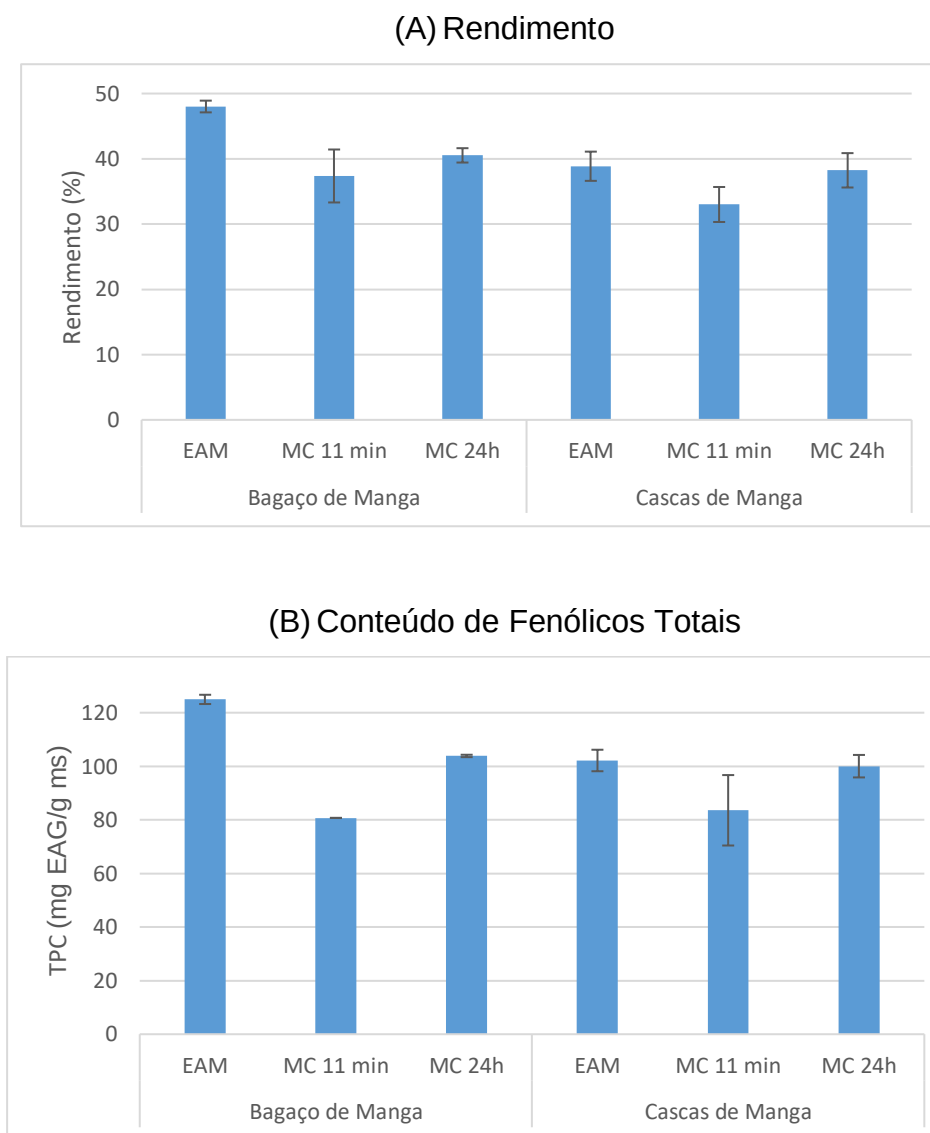
A partir destes dados pode-se perceber que os valores de rendimento e de TPC obtidos pelos extratos das cascas de manga preparados por EAU, foram maiores do que aqueles obtidos por maceração utilizando 5 minutos. No entanto, o valor de rendimento do extrato EAU (36,07%) foi menor do que o da maceração de 1 hora (37,05%) e de 24 horas (39,12%). O mesmo comportamento não foi observado para os valores de TPC, pois o maior valor foi obtido para o extrato de maceração de 24 horas, sendo que o de EAU foi somente maior do que os de maceração de 5 minutos e 1 hora.

Mesmo diante destas diferenças sugerimos que a técnica de EAU seja mais eficiente, uma vez que gerou dados melhores do que o da técnica de maceração utilizando o mesmo tempo de extração, 5 minutos. Isso porque podemos evitar a degradação dos compostos quando submetidos a um maior tempo em contato com o solvente, além de otimizarmos mais o processo total de extração sendo mais eficiente.

4.1.3.2 Comparação entre EAM e Maceração

Após obter o ponto ótimo, o bagaço e as cascas da manga foram submetidos a extração por micro-ondas. Na Figura 21 observa-se o gráfico de colunas com os rendimentos e os valores de conteúdo de fenólicos totais (TPC) obtidos para estes extratos.

Figura 21 – Gráfico em coluna do rendimento (%) (A) e do conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) (B) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAM e pela extração por maceração nos tempos de 11 minutos e 24 horas.



Como podemos ver pela Figura 21(A), o rendimento obtido pelo bagaço da manga foi maior do que o das cascas, com valores, respectivamente, de 48,01 e 38,86%. Já para a extração por maceração com os tempos de extração de 11 minutos e 24 horas, os rendimentos obtidos foram de 37,37 e 40,53% para o bagaço e 33,00 e 38,24% para as cascas de manga.

Com estes resultados percebe-se que o uso da EAM permitiu a obtenção de maiores rendimentos para as duas amostras de resíduos, com valor superior, inclusive, ao tempo de 24 horas de maceração. Isto demonstra que a técnica de

EAM é bastante eficiente, pois gera maiores rendimentos em um tempo de extração menor.

Na literatura é relatado diversos trabalhos que evidenciam que a EAM é uma técnica eficiente na obtenção de maiores rendimentos quando comparada as técnicas clássicas. Isto é visto no trabalho de Alara *et al.*, onde foi possível a obtenção de um rendimento de 21,23% e um valor de TPC de 102,04 mg EAG/g ms dos extratos das folhas de *Vernonia amygdalina* preparados por EAM utilizando as seguintes condições: 10 minutos, 500W, 100°C e 10 mL/g de relação solvente soluto. No mesmo trabalho os autores comparam os dados com os obtidos com extração por Soxhlet, onde o rendimento foi de 16,82% e o valor de TPC de 73,54 mg EAG/g ms, utilizando 100°C, 10 mL/g de relação solvente para soluto e 8 horas de extração [90]. Moreira *et al.* realizaram a extração de compostos fenólicos da casca da macieira (*Malus domestica* 'King Jonagold') através de EAM (60% etanol, 100°C, 20 minutos e 20 mL por 0,1 g), resultando em um valor de TPC de 47,7 mg EAG/g ms, enquanto que a extração convencional com agitador em banho maria (50% etanol, 55 °C, 2 horas e 20 mL por 0,5 g) resultou em um valor de 35,8 ± 1,4 mg EAG/g ms [91].

Na Figura 21(B), temos os valores do conteúdo fenólicos totais (TPC) dos extratos obtidos pelas extrações por micro-ondas e por maceração. O extrato do bagaço apresentou um valor de TPC de 124,96 mg EAG/g ms, um valor maior do que o obtido pelo extrato das cascas, que foi de 102,16 mg EAG/g ms. Os extratos de maceração do bagaço apresentaram um aumento no valor de TPC com o aumento no tempo de extração, sendo obtido 80,72 mg EAG/g ms na extração de 11 minutos e 103,86 mg EAG/g ms na extração de 24 horas. Para os extratos das cascas os valores de TPC tiveram, também, o mesmo comportamento, sendo de 83,57 mg EAG/g ms na extração de 11 minutos e 100,04 mg EAG/g ms na extração de 24 horas.

Ao comparar as duas técnicas (EAM e MC) percebe-se que os extratos obtidos por micro-ondas apresentaram valores de TPC maiores do que os extratos obtidos tanto em 11 minutos quanto em 24 horas de extração por maceração. Isto indica que a técnica de micro-ondas é eficiente na extração de componentes fenólicos, pois é necessário um tempo de extração de 24 horas

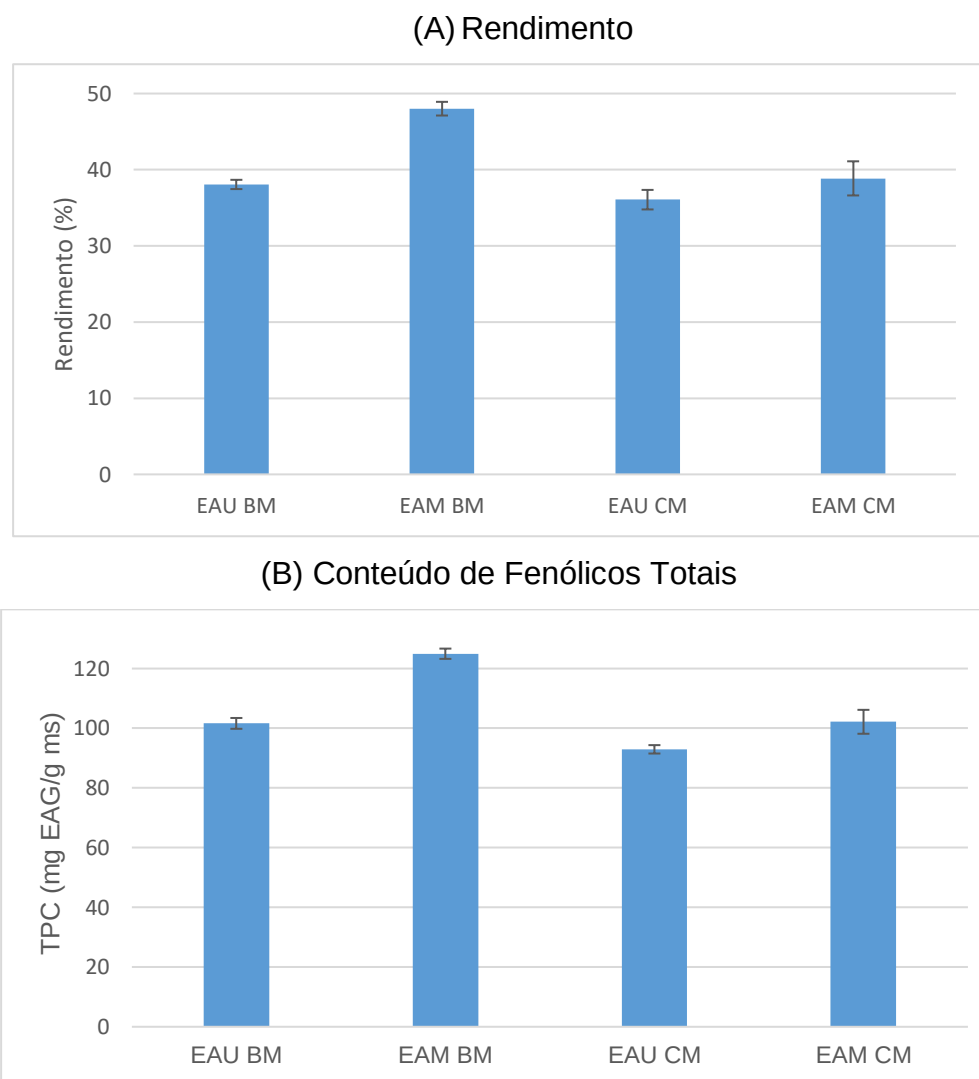
por maceração para se obter valores de TPC próximos aos obtidos por EAM, que utilizou menor tempo.

4.1.3.3 Comparação entre EAU e EAM

As técnicas de extrações assistidas por Ultrassom e Micro-ondas, apresentam eficiência no processo de extração, apresentando com maiores valores de rendimentos [92]. Neste trabalho demonstraram a eficiência na extração de componentes fenólicos em comparação com a técnica de maceração.

Ao comparar as duas técnicas, como demonstrado na Figura 22, pode-se observar que a extração por micro-ondas foi mais efetiva do que a de ultrassom, uma vez que os valores de rendimento dos extratos obtidos por EAM foram maiores do que aqueles obtidos por EAU. Os rendimentos para os extratos obtidos por EAM do bagaço e cascas foram de 48,01% e 38,86%, respectivamente, enquanto para os extratos de EAU foram 38,07% (bagaço) e 36,07% (cascas). O mesmo comportamento é observado nos valores de TPC, onde os extratos obtidos por EAM apresentaram maiores valores do que aqueles obtidos por EAU. Os valores de TPC para os extratos obtidos por EAM do bagaço e cascas foram de 124,96 mg EAG/g ms e 102,16 mg EAG/g ms, respectivamente, enquanto para os extratos de EAU foram 101,63 mg EAG/g ms (bagaço) e 92,95 mg EAG/g ms (cascas).

Figura 22 – Gráfico em coluna do rendimento (%) (A) e do conteúdo de fenólicos totais (mg EAG/g ms) (B) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAU e EAM.



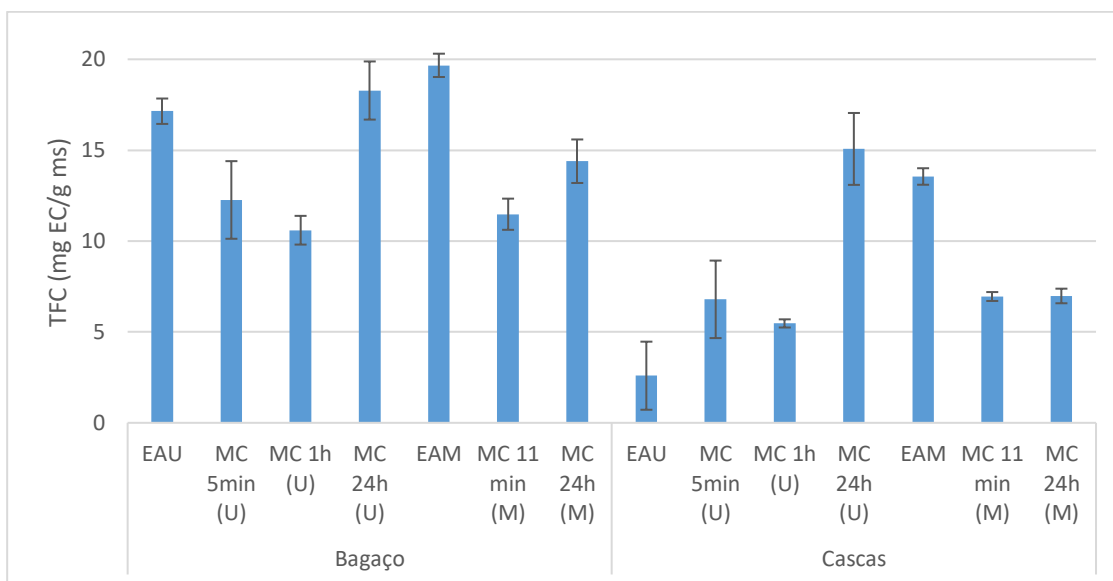
Baseado nos resultados obtidos neste trabalho podemos afirmar que a extração por micro-ondas é mais eficiente na extração de componentes fenólicos e na obtenção de maiores rendimentos a partir dos resíduos industriais de bagaço e cascas de manga, em comparação com a extração por ultrassom.

4.2 Avaliação Fitoquímica

4.2.1 Avaliação do Conteúdo de Flavonoides Totais

A avaliação do conteúdo de flavonoides totais (TFC) foi realizada nos extratos de bagaço e cascas de manga obtidos pela otimização por ultrassom, micro-ondas e maceração. Na Figura 23 (A e B) é demonstrado o rendimento e o resultado do TFC para todas estas amostras.

Figura 23 – Gráfico em coluna do conteúdo de flavonoides totais (mg EC/g ms) dos extratos do bagaço e cascas da manga obtidos por EAU, EAM e pela extração por maceração.



Os valores de TFC para os extratos do bagaço foram de 17,21 (EAU), 11,32 (MC-5 minutos), 10,47 (MC-1 hora) e 18,79 mg EC/g ms (MC-24 horas), lembrando que os extratos de maceração foram preparados na condição da extração por ultrassom. Assim, percebe-se que o extrato obtido por ultrassom apresenta TFC próximo ao valor do extrato obtido por maceração de 24 horas.

Para os extratos do bagaço obtidos por EAM e por maceração na condição ótima de micro-ondas, os valores de TFC foram de 19,75 (EAM), 11,17 (MC-11 minutos) e 14,97 mg EC/g ms (MC-24 horas), onde se observa que o

extrato obtido por EAM apresenta maior TFC do que aqueles obtidos por maceração.

Estes resultados demonstram que as duas técnicas verdes (EAU e EAM) permitem uma maior recuperação de flavonoides do que a extração por maceração. O maior valor de TFC do extrato de maceração (MC-24 horas), realizado nas condições ótimas da extração por ultrassom, em relação ao extrato obtido por EAU não justifica, no nosso entendimento, o uso da maceração preferencialmente a EAU. Uma razão se dá pela pequena diferença de valores entre elas e outra pelo maior tempo necessário de extração ao se usar a maceração.

Os valores de TFC para os extratos das cascas foram de 3,57 (EAU), 5,86 (MC-5 minutos), 5,60 (MC-1 hora) e 14,72 mg EC/g ms (MC-24 horas), onde este último apresentou maior valor do que o extrato obtido por EAU.

Para os extratos das cascas obtidos por EAM e por maceração na condição ótima de micro-ondas, os valores de TFC foram de 13,70 (EAM), 3,83 (MC-11 minutos) e 8,26 mg EC/g ms (MC-24 horas). Neste caso o valor de TFC do extrato EAM (13,70 mg EC/g ms) foi maior do que para aqueles obtidos por maceração, ficando ainda próximo do valor obtido pela maceração de 24 horas (14,72 mg EC/g ms) utilizando as condições otimizadas de ultrassom.

Uma justificativa para o menor valor de TFC obtido pelo extrato EAU das cascas em relação aos obtidos pelos extratos de maceração está no fato de que, muitas vezes, durante o processo de ultrassom pode haver fragmentação de algumas moléculas [10, 11, 12].

Wani *et al.* extraíram das folhas da goiaba (*Psidium guajava*) flavonoides utilizando EAU, o qual apresentou um TFC de 264,47 mg Quercetina/g ms, enquanto o extrato obtido a quente com refluxo forneceu um valor de TFC de 184,3 mg Quercetina/g ms de TFC [93]. Em um estudo das cascas da fruta araçá vermelha (*Psidium cattleianum* Sabine) onde se realizou a extração de flavonoides, o valor de TFC para o extrato obtido por EAU foi de 374,05 mg EC/100 g de casca, enquanto o valor de TFC fornecido pelo extrato preparado por Soxhlet foi de 351,80 mg EC/100 g de casca. Isto demonstra como as técnicas modernas apresentam maior recuperação de conteúdos de flavonoides

totais [94]. Abbas *et al.* realizaram a comparação entre micro-ondas, ultrassom e soxhlet na extração de flavonoides da fruta *Lagenaria siceraria*. A extração resultou nos valores de TFC de 24,22 (EAM), 21,95 (EAU) e 7,94 mg EC/100 mg (Soxhlet), demonstrando que as técnicas de EAM e EAU forneceram maior conteúdo de flavonoides totais [95]. Em outro estudo, foi realizado a extração de flavonoides das folhas de *Urtica dioica* por EAM e EAU que resultaram, respectivamente, em 10,99 e 5,34 mg EC/g de folhas secas. Neste estudo pôde-se perceber que o uso da técnica de EAM foi mais eficiente para a extração de flavonoides do que a técnica EAU, o que é um fato comumente demonstrado na literatura [96]. Xiao *et al.* realizaram a comparação do rendimento de extração de flavonoides das raízes de *Astragalus membranaceus* por EAM (90% de etanol, 2 repetições de 25 minutos), extração por refluxo à quente (90% de etanol, 2 repetições de 2 horas), Soxhlet (100% de metanol, 4 horas) e EAU (100% de metanol, 2 repetições de 30 min), resultando em valores de 1,190, 0,934, 1,292 e 0,736 mg/g de flavonoides, respectivamente. A extração por Soxhlet apresentou maior rendimento de flavonoides, entretanto foi necessário utilizar um tempo maior de extração e um solvente mais tóxico, enquanto que por EAM foi necessário um tempo menor e um solvente ambientalmente amigável a natureza. Além disso, vale mencionar que a diferença entre os rendimentos obtidos por EAM e Soxhlet não é grande [97]. Zhang *et al.* extraíram flavonoides das folhas de *Epimedium sagittatum* através da EAM (25 min e 75°C), extração à quente (20 min e 75°C) e extração por agitação (25 min e 30°C), resultando em rendimentos 105,28, 84,78 e 54,72 mg/g, respectivamente [98]. Estes estudos demonstram como a técnica de extração assistidas por micro-ondas permite extrair maiores rendimentos e conteúdo de flavonoides totais em comparação com técnicas de extrações clássicas.

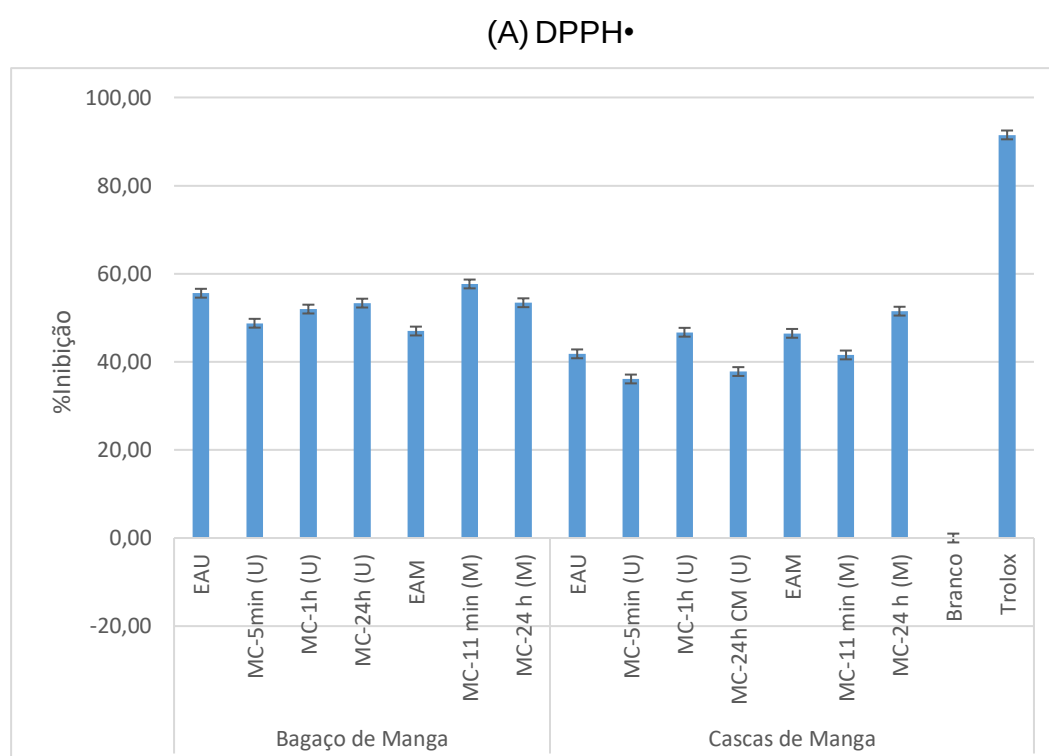
No nosso caso este comportamento foi observado, uma vez que os valores de TFC dos extratos do bagaço e das cascas preparados por EAM foram maiores do que daqueles extratos preparados por EAU, comprovando que a técnica de micro-ondas é mais eficiente na extração de flavonoides.

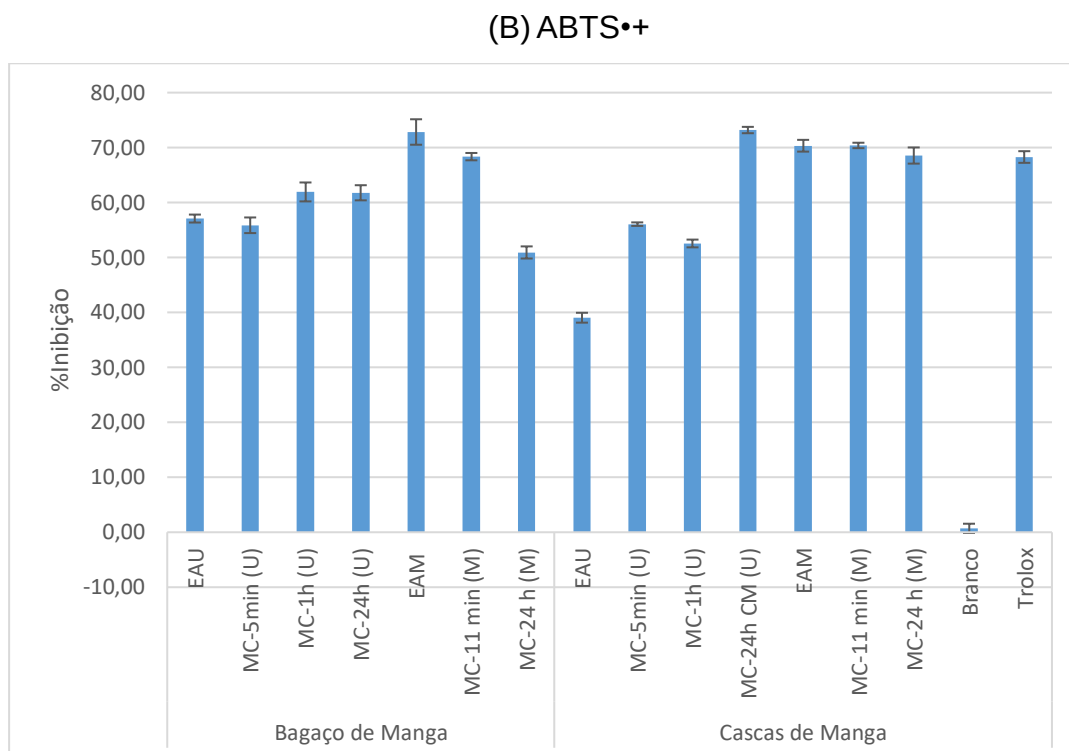
4.2.2 Avaliação Antioxidante

Vários derivados de fenólicos são comumente encontrados em extratos provenientes de partes da mangueira (*Mangifera indica*), os quais apresentam reconhecidas atividades antioxidantes [99]. Por isso, neste trabalho foi realizado testes antioxidantes de DPPH•, ABTS•+ e FRAP nos extratos do bagaço e das cascas de manga obtidos por ultrassom, micro-ondas e maceração, estes últimos obtidos seguindo as condições ótimas de ultrassom e micro-ondas.

Na Figura 24 o gráfico de colunas mostra os resultados do percentual de inibição (%Inibição) dos testes de DPPH• e ABTS•+ dos extratos e aqueles obtidos pelo Trolox e branco.

Figura 24 – Gráfico de coluna do percentual de inibição (%Inibição) dos testes DPPH• e ABTS•+ dos extratos de bagaço e cascas de de manga por EAU, EAM e MC, condição ótima de extração obtida por ultrassom (U) e por micro-ondas (M).





Os percentuais de inibição do radical DPPH• [Figura 24(A)] para os extratos do bagaço de manga foram de 55,56 (EAU), 48,75 [MC-5min(U)], 51,97 [MC-1h(U)] e 53,32% [MC-24h(U)], os três últimos referentes aos extratos de maceração obtidos na condição ótima de ultrassom.

Ao comparar os métodos de extração por EAU e maceração, pode-se notar que o extrato obtido por EAU apresentou maior percentual de inibição do radical DPPH do que o da maceração nos três tempos de extração avaliados (5 minutos, 1 hora e 24 horas). Para os extratos do bagaço obtidos pelo método de micro-ondas, os percentuais de inibição foram de 46,98 (EAM), 57,67 [MC-11min(M)] e 53,41% [MC-24h(M)], os dois últimos referentes aos extratos de maceração obtidos na condição ótima do micro-ondas. Neste caso, o extrato obtido por micro-ondas apresentou um percentual de Inibição menor do que os dois extratos de maceração (11 minutos e 24 horas).

Paras as amostras dos extratos de cascas de manga, os percentuais de inibição do radical DPPH• foram de 41,81 (EAU), 36,10 [MC-5min(U)], 46,71 [MC-1h(U)] e 37,79% [MC-24h(U)], os três últimos referentes aos extratos de maceração obtidos na condição ótima de ultrassom. Pelos dados, percebe-se que o extrato das cascas obtido por EAU (41,81%) apresentou maior inibição do

que o extrato obtido por maceração (36,10%) utilizando o mesmo tempo de extração, no caso 5 minutos. O extrato de EAU (41,81%) também apresentou uma percentagem de inibição maior do que o do extrato preparado por maceração que utilizou 24 horas (37,79%), no entanto ele foi menor do que o do extrato de maceração de 1 hora (46,71%).

Para os extratos das cascas obtidos pelo método de micro-ondas, os percentuais de inibição do radical DPPH• foram de 46,46 (EAM), 41,56 [MC-11min(M)] e 51,50% [MC-24h (M)], os dois últimos referentes aos extratos de maceração obtidos na condição ótima do micro-ondas. Observa-se que o valor do percentual para o extrato de micro-ondas foi maior do que o da maceração no tempo de extração de 11 minutos, mas menor do que o extrato de maceração de 24 horas. Todos os extratos analisados (bagaço e cascas de manga) ficaram acima do percentual do branco ($-6,2 \cdot 10^{-15}\%$) e abaixo do Trolox (91,50%).

Sadeh et al. verificaram o potencial antioxidante de um extrato metanólico (80%) das cascas de manga e obtiveram um percentual de inibição do radical DPPH de 73,16%, sendo que foi utilizado uma relação solvente para soluto de 10 mL/g de cascas e 1 hora de tempo de extração [100]. Percebe-se que nossos resultados foram menores do que o obtido por este trabalho, no entanto vale mencionar que foi utilizado um solvente tóxico para o meio ambiente para o preparo do extrato, ao mesmo tempo em que a relação solvente para soluto e o tempo de extração foram maiores, justificando a diferença observada. Em nosso trabalho foi utilizado etanol como solvente de extração como uma estratégia de seguir as premissas da química verde.

Os percentuais de inibição dos extratos do bagaço de manga frente ao teste ABTS•+ [Figura 24(B)] foram de 57,08 (EAU), 55,86 [MC-5min(U)], 61,93 [MC-1h(U)] e 61,77% [MC-24h(U)], os três últimos referentes aos extratos de maceração obtidos na condição ótima de ultrassom. O extrato de bagaço obtido por EAU (57,08%) apresentou maior percentagem de inibição do que o de maceração com o mesmo tempo de extração (55,86%), mas um pouco menor do que os outros extratos de maceração com tempo de extração maior (1 e 24 horas). Para os extratos do bagaço que foram extraídos por EAM e maceração nas condições ótimas de micro-ondas, os percentuais de inibição foram 72,83

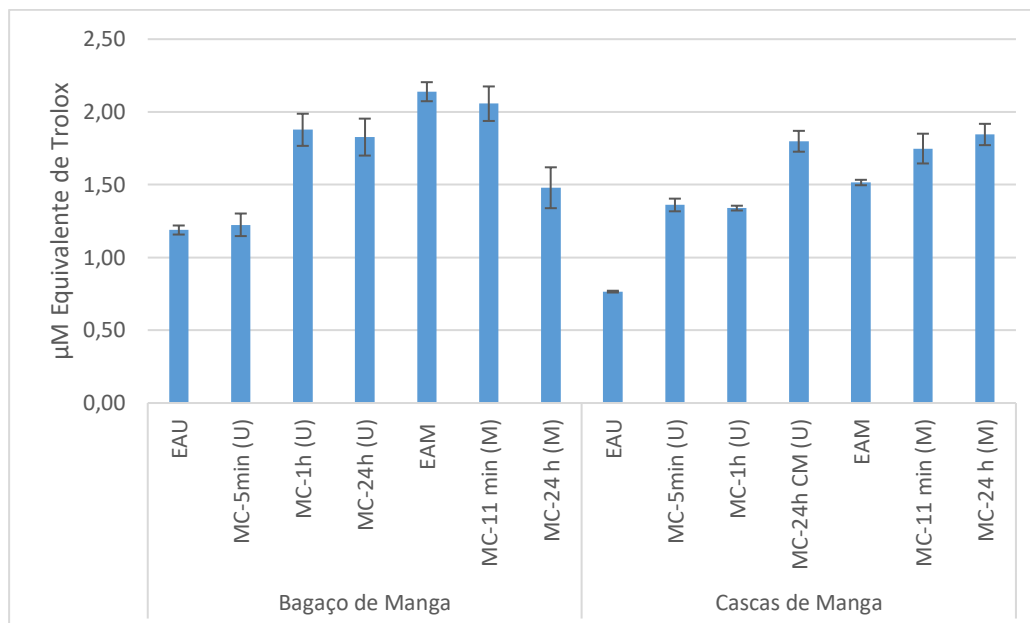
(EAM), 68,35 [MC-11min(M)] e 50,92% [MC-24h(M)]. O extrato EAM apresentou maior valor de percentual de inibição do que todos os extratos obtidos por maceração.

Para os extratos das cascas de manga, os percentuais de inibição do radical ABTS•+ foram de 39,04 (EAU), 56,07 [MC-5min(U)], 52,55 [MC-1h(U)] e 73,19% [MC-24h(U)], os três últimos referentes aos extratos de maceração obtidos na condição ótima de ultrassom. Neste caso o percentual de inibição obtido pelo extrato EAU foi menor do que todos os extratos obtidos por maceração. Para os extratos de cascas obtidos por EAM e maceração nas condições ótimas de micro-ondas, os percentuais de inibição foram de 70,34 (EAM), 70,39 [MC-11min(M)] e 68,55% [MC-24h(M)]. Neste caso todos os extratos apresentaram percentuais próximos e acima do Trolox (68,28%), demonstrando que a condição de extração considerada ótima para esta técnica foi eficaz na obtenção de compostos que inibem o radical ABTS•+, com resultados bastante interessantes. O mesmo pode ser dito do extrato de EAM do bagaço, pois forneceu um valor de inibição do radical ABTS•+ de 72,83%.

Por outro lado, os extratos do bagaço e cascas obtidos com a condição ótima do ultrassom tiveram seus percentuais de inibição abaixo do valor obtido para o Trolox (68,28%). Todos os extratos, no entanto, resultaram em percentuais de inibição acima do branco (0,71%).

Os resultados para os ensaios pelo método do poder antioxidante redutor férrico (FRAP) estão demonstrados na Figura 25, com seus respectivos desvios padrão.

Figura 25 – Determinação da atividade antioxidante dos extratos de bagaço de manga por FRAP.



Como pode ser observado na Figura 25, o extrato de bagaço de manga obtido por EAU apresentou um valor de 1,19 $\mu\text{M ET/g}$ extrato, sendo menor do que os extratos de maceração 1,22 (5 minutos), 1,88 (1 hora) e 1,83 $\mu\text{M ET/g}$ ex (24 horas). Para o extrato de bagaço obtido por EAM o ensaio resultou em 2,14 $\mu\text{M ET/g}$ extrato, sendo maior do que os extratos obtidos por maceração 2,06 (11 minutos) e 1,48 $\mu\text{M ET/g}$ ex (24 horas).

Para os extratos das cascas de manga preparados por EAU, os valores obtidos foram 0,77 (EAU), 1,36 (MC-5 min), 1,34 (MC-1h) e 1,80 $\mu\text{M ET/g}$ extrato (MC-24h), os três últimos referentes aos extratos de maceração obtidos na condição ótima de ultrassom. Neste caso observa-se que o extrato EAU apresentou menor atividade antioxidante do que as amostras obtidas por maceração. Para os extratos obtidos pela técnica EAM e seus respectivos extratos de maceração obteve-se os valores de 1,51 (EAM), 1,75 (MC-11 min) e 1,84 $\mu\text{M ET/g}$ extrato (MC-24h).

Comparando os resultados obtidos pelos extratos EAU e EAM do bagaço e das cascas, observa-se que os extratos preparados por micro-ondas (bagaço: 2,14 $\mu\text{M ET/g}$ extrato e cascas: 1,51 $\mu\text{M ET/g}$ extrato) mostraram maiores valores

do que os de ultrassom (bagaço: 1,19 $\mu\text{M ET/g}$ extrato e cascas: 0,77 $\mu\text{M ET/g}$ extrato).

A Tabela 8 mostra a comparação dos resultados dos extratos preparados por EAU e EAM do bagaço e cascas de manga frente aos três ensaios antioxidantes DPPH•, ABTS•+ e FRAP.

Tabela 8: Valores das atividades antioxidantes dos extratos do bagaço e cascas de manga obtidos pelas extrações assistidas por ultrassom e por micro-ondas.

Bagaço	DPPH (%)	ABTS (%)	FRAP ($\mu\text{mol ET/g ex}$)
EAU	55,56	57,08	1,19
EAM	46,98	72,83	2,14
Cascas			
EAU	41,81	39,04	0,77
EAM	46,46	70,34	1,51

Ao considerar os extratos do bagaço, pode-se observar que os melhores resultados foram obtidos com os extratos EAM frente ao método ABTS e FRAP, enquanto para os extratos das cascas, aqueles preparados por EAM apresentaram-se maiores frente aos três métodos utilizados. Assim, excetuando a melhor atividade antioxidante pelo método DPPH observado para o extrato EAM do bagaço quando comparado ao EAU, todos os demais extratos preparados por EAM foram maiores do que seus respectivos extratos EAU.

Na literatura são encontrados estudos que demonstram a eficiência na extração de compostos antioxidantes por micro-ondas. Kaanin-Boudraa *et al.* [64] verificaram que o extrato das cascas de toranja (*Citrus × paradisi*) obtidas por EAM apresentam maior potencial antioxidante do que o obtido por maceração. Kaderides *et al* [71], compararam as técnicas EAU e EAM na extração de componentes fenólicos antioxidantes do resíduo industrial das cascas de romã, onde o micro-ondas apresentou maior atividade antioxidante do que o ultrassom.

A partir destes resultados, podemos considerar os resíduos industriais do bagaço e cascas de manga como fontes em potencial de compostos que apresentam atividade antioxidante, principalmente quando consideramos a extração feita por micro-ondas em comparação com as técnicas de extração por ultrassom e maceração, ressaltando as condições aplicadas neste trabalho.

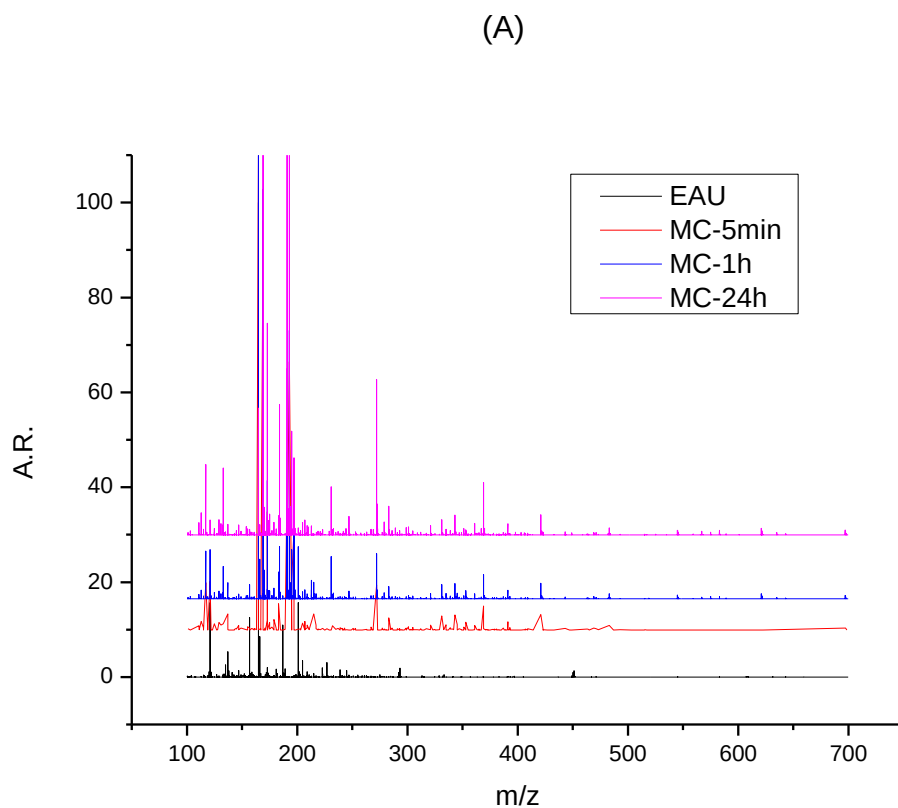
4.3 Identificação por Espectrometria de Massas

Os compostos fenólicos estão presentes em diversas frutas e se destacam pelas atividades biológicas que apresentam, sendo encontrados em quantidades variáveis. Dentre estes compostos temos diversas classes como os ácidos fenólicos, como os ácidos gálico, cafeico e clorogênico; e flavonoides como a catequina, quercetina e hesperidina [101]. Na fruta manga são encontrados diversos compostos fenólicos, dentre estes destaca-se a mangiferina e seus derivados, uma vez que estão presentes em grandes quantidades, em comparação a outras frutas, e apresentam importantes potenciais biológicos [8, 37].

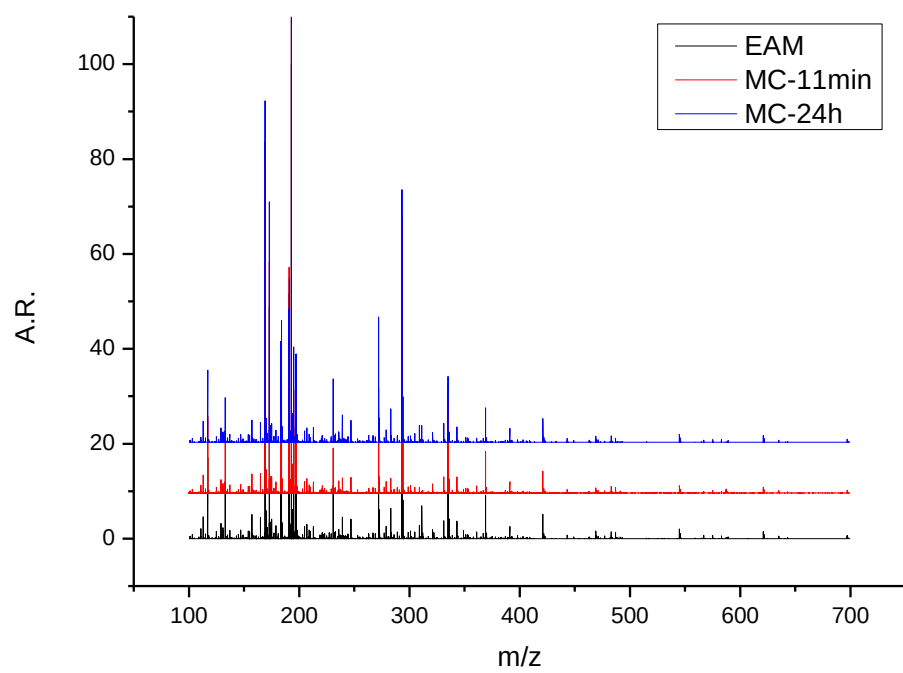
As propostas estruturais dos marcadores químicos presentes nos extratos dos resíduos do bagaço e cascas de manga foram realizadas por meio da fórmula molecular atribuída ao íon $[M-H]^-$ e da massa molecular exata do íon determinado por HRMS. Foi considerado as estruturas fenólicas baseados no perfil químico relatado em extratos de manga mencionados na literatura e nos Bancos de Dados ChemSpider e Pubchem [52, 86, 102]. A região de massas na faixa de m/z 100 a 1000 foi a escolhida para avaliar, sendo uma região possível de detectar os compostos fenólicos, principalmente a mangiferina e seus derivados. A partir desses dados, foi possível propor estruturas químicas que pertencem a classe dos fenólicos (Figura 4A e 5A), como os ácidos fenólicos, flavonoides e xantonas, os quais estavam presentes nas amostras dos extratos obtidos pelas três metodologias de extração (EAU, EAM e MC). Estes resultados, juntamente com aqueles relatados na literatura, permitem considerar que a mangiferina é um marcador fitogenético da fruta manga.

Na Figura 26, é apresentado os espectros de massas para cada extrato dos resíduos do bagaço e cascas de manga obtidos pelos métodos de extração por maceração, ultrassom e micro-ondas.

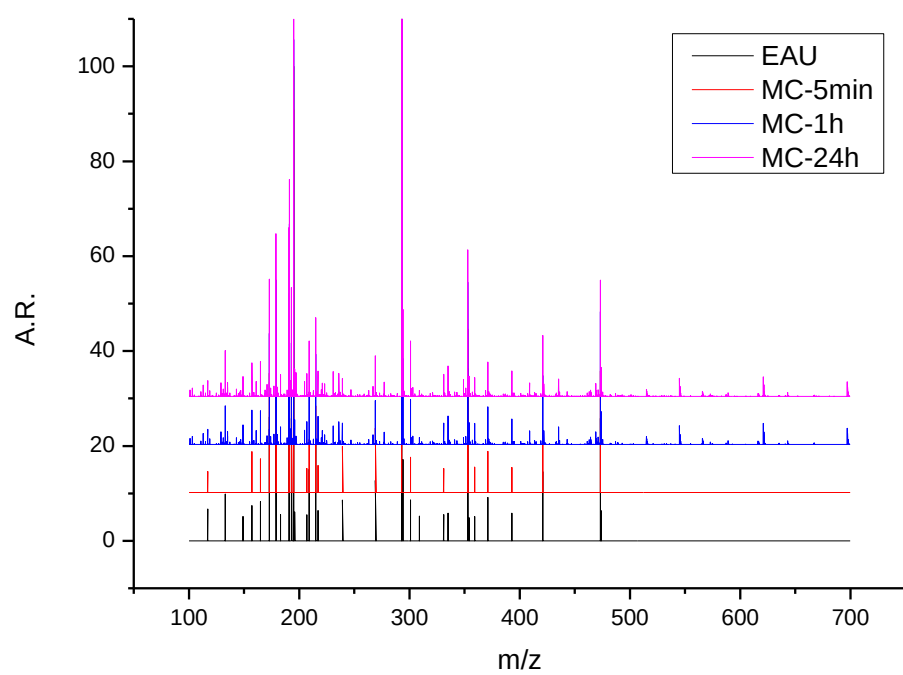
Figura 26 – Espectros de massas dos extratos do bagaço (A e B) e cascas de manga (C e D).



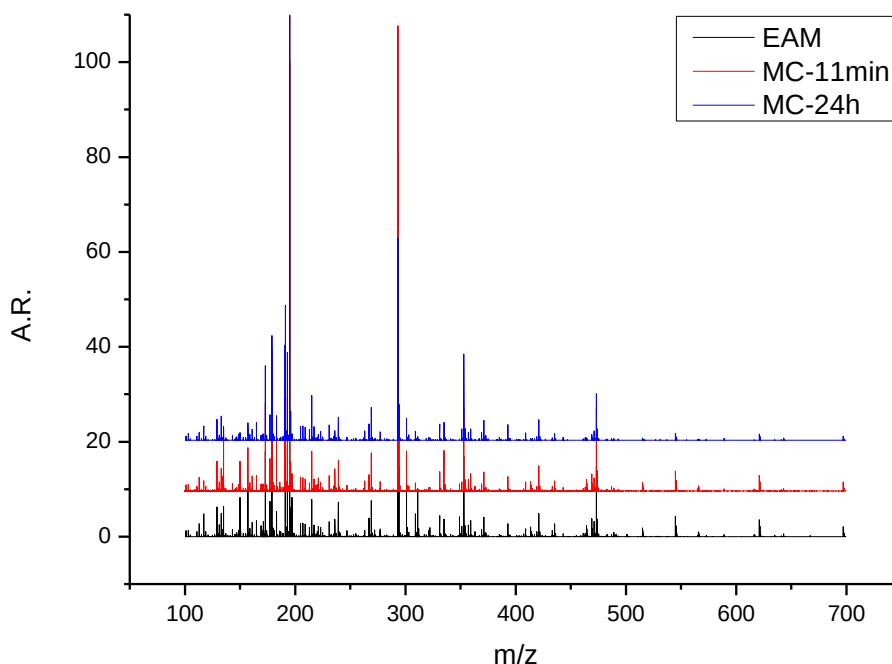
(B)



(C)



(D)



As fórmulas moleculares obtidas a partir da massa exata dos íons foram comparadas com as moléculas com mesma massa e fórmula molecular presentes na literatura e nos dados encontrados no Banco de Dados Pubchem e ChemSpider. Com isso, foi possível propor os compostos que são característicos nos extratos, sendo eles a mangiferina (1), D-fructopiranosose (14B, Figura 4A- Apêndice) e β -glucogalina (30B, Figura 4A- Apêndice). Na Tabela 7 e 8 são demonstrados a abundância relativa dos compostos, mencionados anteriormente, em cada uma das amostras analisadas.

Foi possível propor a estrutura de 39 compostos fenólicos considerando todos os extratos provenientes do bagaço e 26 considerando todos os extratos provenientes das cascas. Nota-se que há diferenças entre os extratos obtidos em cada método de extração, no entanto vale destacar a presença do Ácido salicílico (6B), Ácido *trans*-acônico (11B) e Ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (25B) em todos os extratos do bagaço. Nos extratos de maceração obtidos na condição ótima de ultrassom foi possível a detecção de uma maior quantidade de marcadores químicos quando comparados ao extrato EAU. Este fato pode

estar relacionado com as bolhas de cavitação que geram grande impacto nas moléculas e causam sua fragmentação, formando outras moléculas no extrato EAU [10-12].

Nos extratos do bagaço obtidos por EAM e maceração na condição ótima do micro-ondas nota-se que, de todos os 39 compostos identificados, estes três extratos não possuem sete deles, sendo o Ácido hexanóico (1B), Ácido benzóico (3B), Ácido ftálico (7B), Ácido 2-hidroxitereftálico (15B), Butilftalida (17B), 4-hidroxixantona (26B) e Metil 6-O-galoil-b-D-glucopiranosídeo (33B). Isto demonstra que a técnica de extração por micro-ondas consegue extrair com eficiência os compostos bioativos sem fragmentá-los.

Para todos os extratos das cascas de manga foi possível detectar a presença dos seguintes marcadores químicos: Ácido succínico (1C), Ácido D-arabinônico (4c), Ácido chiquímico (8C), D-frutopiranoose (9C), Ácido cítrico (11C), Ácido quínico (12C), Ácido glucônico (14C), Ácido 4-O-Metil- α -D-glucurônico (17C), 1,8-dihidroxiantraquinona (19C), Purpurina (20C), β -glucogalina (21) e Mangiferina (26C). O extrato obtido por EAU apresenta uma maior quantidade de compostos do que o extrato obtido por maceração utilizando 5 minutos (MC-5min) mas menos do que os extratos de MC-1h e MC-24h.

Os extratos das cascas obtidos por EAM e maceração, utilizando as condições ótimas de micro-ondas, apresentam semelhanças entre os marcadores químicos, demonstrando que ao utilizar a condição ótima para EAM (tempo de 11 minutos) é possível se extrair componentes semelhantes daqueles presentes no extrato de maceração, no entanto, utilizando 24 horas (MC-24h).

Considerando todos os extratos do bagaço de manga obtidos por EAM e maceração na condição ótima do micro-ondas, observa-se que o ácido α -D-galacturônico (20B) é o composto que apresenta maior abundância relativa (A.R.) em todos eles. No extrato EAU do bagaço o composto de maior abundância foi o ácido ftálico (7B), e nas macerações com as condições ótimas de ultrassom o ácido salicílico (6B) e o ácido D-arabinônico (8B) foram os de maior abundância nos extratos MC-5min e MC-1h, respectivamente.

Para os extratos das cascas obtidos por EAU, EAM e macerações nas condições ótimas de micro-ondas, o ácido glucônico (14C) apresenta maior

abundância relativa em todos eles, enquanto que nos extratos de maceração obtidos nas condições ótimas de ultrassom a purpurina (20C) é a de maior abundância.

Finalmente, todos os marcadores químicos identificados se assemelham muito com aqueles relatados na literatura para estudos químicos que referentes a extratos provenientes de partes da fruta manga (polpa, bagaço, sementes e casca). A maioria dos trabalhos relatam estudos com as cascas, que é um resíduo encontrado com mais frequência, tendo a mangiferina como o composto em destaque devido ao seu alto interesse biológico e econômico [52, 86, 102].

Tabela 9: Marcadores químicos presentes nos extratos do resíduo de bagaço de manga obtido pelos métodos de maceração, extração assistida por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM).

Nº	Composto	M.T. [H-1]*	EAU ^a	MC-5min ^a	MC-1h ^a	MC-24h ^a	EAM ^b	MC-11min ^b	MC-24h ^b
			Abundância Relativa						
1B	Ácido hexanóico	115,07645	0,41	10,06	11,23	-	-	-	-
2B	Ácido succínico	117,01933	-	10,33	0,86	14,86	17,03	16,10	15,22
3B	Ácido benzóico	121,02950	15,67	1,35	1,55	3,13	-	-	-
4B	Pirogalol	125,02442	-	1,63	2,29	1,35	1,53	1,19	1,19
5B	Ácido glutacônico	129,01933	-	3,45	1,07	3,23	3,21	2,83	2,99
6B	Ácido salicílico	137,02442	5,35	100,00	0,65	2,24	1,72	1,67	1,70
7B	Ácido ftálico	165,01933	100,00	2,00	2,07	26,74	-	-	-
8B	Ácido D-arabinônico	165,04046	-	86,29	100,00	4,22	4,41	4,11	4,21
9B	Ácido gálico	169,01425	-	-	-	83,48	83,61	69,86	71,99
10B	Ácido decanóico	171,13905	0,56	2,07	2,37	-	0,85	0,68	0,80
11B	Ácido <i>trans</i> -acônico	173,00916	0,41	24,94	25,46	3,83	3,35	2,93	2,65
12B	Ácido chiquímico	173,04555	-	10,06	11,23	44,61	48,80	48,60	50,65
13B	Ácido ascórbico	175,02481	-	1,66	1,65	4,41	4,06	3,41	3,97

^a: Extração com a condição ótima obtida por EAU; ^b: Extração com a condição ótima obtida por EAM.

Continuação da tabela 9.

Nº	Composto	M.T. [H-1]*	EAU ^a	MC-5min ^a	MC-1h ^a	MC-24h ^a	EAM ^b	MC-11min ^b	MC-24h ^b
			Abundância Relativa						
14B	D-fructopiranosose	179,05611	-	2,27	1,29	2,68	2,69	2,33	2,54
15B	Ácido 2-hidroxitereftálico	181,01425	1,67	0,37	-	-	-	-	-
16B	Galato de metila	183,02990	-	5,61	5,33	4,02	36,15	22,38	21,26
17B	Butilftalida	189,09210	1,75	-	-	-	-	-	-
18B	Ácido cítrico	191,01973	-	30,99	41,08	92,89	51,64	47,58	28,08
19B	Ácido quínico	191,05611	-	20,18	21,54	35,14	34,17	34,47	34,46
20B	Ácido α -D-galacturônico	193,03538	-	56,58	61,70	100,00	100,00	100,00	100,00
21B	Ácido glucônico	195,05103	-	10,38	10,23	21,88	23,47	21,67	20,04
22B	Ácido sirínico	197,04555	-	21,33	23,43	16,24	20,06	16,76	18,58
23B	Ácido 2-metilcítrico	205,03538	-	1,46	1,52	2,59	2,47	2,48	2,39
24B	Ácido 4-O-metil- α -D-glucurônico	207,05103	-	1,87	2,01	3,15	2,96	3,04	3,01
25B	Ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico	209,00916	1,08	0,46	1,65	4,41	4,06	3,41	3,97

^a: Extração com a condição ótima obtida por EAU; ^b: Extração com a condição ótima obtida por EAM.

Continuação da tabela 9.

Nº	Composto	M.T. [H-1]*	EAU ^a	MC-5min ^a	MC-1h ^a	MC-24h ^a	EAM ^b	MC-11min ^b	MC-24h ^b
			Abundância Relativa						
26B	4-hidroxixantona	211,04007	0,48	-	-	-	-	-	-
27B	1-hidroxiantraquinona	223,04594	0,69	0,38	0,49	1,10	1,05	0,90	0,76
28B	1,8-dihidroxiantraquinona	239,03498	1,54	-	11,50	-	4,49	3,15	5,76
29B	Purpurina	255,02990	0,44	-	0,33	-	45,62	58,23	53,23
30B	β-glucogalina	331,06707	-	3,03	3,00	3,23	3,72	3,40	3,97
31B	3,5,7,3',4',5'- hexahidroxi flavonol	335,04086	-	1,11	0,68	1,18	27,01	19,42	13,88
32B	Ácido 1,3,4-trihidroxi-5-(3,4,5- trihidroxibenzoil)oxiciclohexano- 1-carboxílico	343,06707	-	3,23	2,45	4,21	3,65	3,35	3,22
33B	Metil 6-O-galoil-b-D- glucopiranosídeo	345,08272	-	1,21	-	-	-	-	-

^a: Extração com a condição ótima obtida por EAU; ^b: Extração com a condição ótima obtida por EAM.

Continuação da tabela 9.

Nº	Composto	M.T. [H-1]*	EAU ^a	MC-5min ^a	MC-1h ^a	MC-24h ^a	EAM ^b	MC-11min ^b	MC-24h ^b
			Abundância Relativa						
34B	ácido (2S,3S,4R,5R,6R)- 4,5,6-trihidroxi-3- [(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5- trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2- il]oxioxano-2-carboxílico	353,10893	-	1,73	0,62	0,88	0,75	0,97	0,91
35B	7-O-galloil-sedoheptulose	361,07763	-	1,04	1,43	2,45	1,36	1,52	0,89
36B	Ácido digalacturônico	369,06746	-	5,11	5,81	11,02	9,13	8,68	7,22
37B	Mangiferina	421,07763	-	3,30	4,35	4,28	5,13	4,60	5,04
38B	5-[(E)-1,3-difenilalil]-4- hidroxi-2-fenetil-2-propil-3H- piran-6-ona	451,22787	1,30	-	-	-	-	-	-
39B	1,6-bis-O-galloil-β-D-glicose	483,07803	-	1,04	1,27	1,45	1,45	1,39	1,37

^a: Extração com a condição ótima obtida por EAU; ^b: Extração com a condição ótima obtida por EAM.

Tabela 10: Marcadores químicos presentes nos extratos do resíduo de cascas de manga obtido pelos métodos de maceração, extração assistida por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM).

Nº	Composto	M.T. [H-1]*	EAU ^a	MC-5min ^a	MC-1h ^a	MC-24h ^a	EAM ^b	MC-11min ^b	MC-24h ^b
			Abundância Relativa						
1C	Ácido succínico	117,01933	6,74	4,42	3,21	3,31	4,77	2,16	2,99
2C	Ácido glutacônico	129,01933	-	-	2,64	2,84	6,25	6,26	4,42
3C	Ácido salicílico	137,02442	-	-	0,49	0,69	-	-	0,51
4C	Ácido D-arabinônico	165,04046	8,27	7,07	7,08	7,32	3,35	3,24	3,67
5C	Ácido gálico	169,01425	-	-	-	1,31	2,29	1,46	1,05
6C	Ácido decanóico	171,13905	-	-	0,59	0,70	1,46	1,34	0,60
7C	Ácido trans-acônico	173,00916	-	-	3,18	2,96	1,34	1,33	1,28
8C	Ácido chiquímico	173,04555	26,05	25,13	23,41	24,64	17,95	18,56	15,72
9C	D-fructopirranose	179,05611	42,79	44,79	34,67	34,27	29,79	29,87	22,09
10C	Galato de metila	183,02990	5,52	-	3,69	4,57	5,27	13,01	5,13
11C	Ácido cítrico	191,01973	40,87	31,65	31,82	35,58	20,38	21,49	20,04
12C	Ácido quínico	191,05611	52,15	47,93	46,48	45,66	28,94	28,71	28,48
13C	Ácido α -d-galacturônico	193,03538	25,79	21,94	-	22,89	18,56	19,77	18,53
14C	Ácido glucônico	195,05098	100,00	80,65	85,34	94,16	100,00	100,00	100,00

^a: Extração com a condição ótima obtida por EAU; ^b: Extração com a condição ótima obtida por EAM.

Continuação da tabela 10.

Nº	Composto	M.T. [H-1]*	EAU ^a	MC-5min ^a	MC-1h ^a	MC-24h ^a	EAM ^b	MC-11min ^b	MC-24h ^b
			Abundância Relativa						
15C	Ácido siríngico	197,04546	-	-	1,75	4,97	8,26	3,65	0,47
16C	Ácido 2-metilcítrico	205,03527	-	-	3,03	3,07	2,72	2,92	2,95
17C	Ácido 4-O-Metil- α -D-glucurônico	207,05095	5,50	5,05	4,82	4,76	2,82	2,82	3,04
18C	ácido 2,4,5-trihidrox-3-metoxihexanodióico	223,04590	-	-	2,02	2,62	1,90	1,84	-
19C	1,8-dihidroxiantraquinona	239,12883	8,58	9,69	4,56	3,75	7,28	6,52	4,89
20C	Purpurina	293,17584	92,67	100,00	100,00	100,00	80,51	98,06	42,58
21C	β -glucogalina	331,06704	5,56	5,06	4,50	4,62	4,41	4,09	3,40
22C	3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavonol	335,04090	5,82	-	5,95	6,36	3,68	8,59	3,76
23C	Ácido 1,3,4-trihidrox-5-(3,4,5-trihidroxibenzoil)oxiciclohexano-1-carboxílico	343,06693	-	-	0,79	0,80	16,96	17,55	18,18

^a: Extração com a condição ótima obtida por EAU; ^b: Extração com a condição ótima obtida por EAM.

Continuação da tabela 10.

Nº	Composto	M.T. [H-1]*	EAU ^a	MC-5min ^a	MC-1h ^a	MC-24h ^a	EAM ^b	MC-11min ^b	MC-24h ^b
			Abundância Relativa						
24C	(2S,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-trihidroxi-3-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2 ácido -il]oxioxano-2-carboxílico	353,10896	36,32	34,46	34,24	30,82	-	-	-
25C	Ácido digalacturônico	369,06741	-	-	0,83	1,22	1,24	1,49	1,22
26C	Mangiferina	421,07763	14,56	12,74	14,52	12,83	4,85	5,30	4,30

^a: Extração com a condição ótima obtida por EAU; ^b: Extração com a condição ótima obtida por EAM.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi realizada a otimização para a extração de metabólitos secundários de resíduos da manga, bagaço e casca, pelos métodos de Extração Assistida por Ultrassom (EAU) e Extração Assistida por Micro-ondas (EAM), utilizando o conteúdo de fenólicos totais como resposta. As condições ótimas de extração foram obtidas baseando-se nos experimentos com o auxílio de estudos estatísticos. Assim, a melhor condição para o ultrassom foi determinada como sendo: concentração de etanol em água de 58,28%, que é a variável que apresenta maior influência no processo de extração, relação solvente para soluto de 7,929 mL para 0,2 g de material seco, 5 minutos de tempo de extração, frequência de 37 kHz, temperatura de 40 °C e 30% de potência do equipamento. Para o micro-ondas a condição ótima foi determinada como sendo: concentração de etanol em água de 48,981%, tempo de 11 minutos e 6 s, relação solvente para soluto de 16 mL para 0,2 g, com temperatura de 84 °C e potência de 500W.

A extração com a condição ótima por EAU resultou em um rendimento de 38,07% e de um valor de TPC de 101,63 mg EAG/g ms para o extrato do bagaço da manga. Para os extratos das cascas da manga foram o rendimento foi de 36,07% e o TPC de 92,95 mg EAG/g ms. O extrato do bagaço obtido por EAM, nas condições ótimas, resultou em um rendimento de 48,01% e TPC de 124,96 mg EAG/g ms, enquanto que para as cascas o rendimento do extrato foi de 36,86% e o TPC de 102,16 mg EAG/g ms.

Ao comparar os extratos do bagaço e das cascas de manga preparados por maceração com aqueles preparados pelas técnicas de EAU e EAM, observou-se que os maiores valores de TPC foram obtidos pelos extratos EAU e EAM, sendo este último o que apresentou maior valor entre eles tanto de TPC quanto de TFC.

O extrato obtido por EAU do bagaço apresentou 55,56 e 57,08% de inibição frente aos métodos DPPH• e ABTS•+, enquanto para as cascas foram de 39,04 e 41,81%, respectivamente. Pelo método FRAP os valores foram de 1,19 (bagaço) e 0,77 µM ET/g ex (cascas). Para os extratos do bagaço obtidos por EAM os valores de inibição frente aos métodos DPPH• e ABTS•+ foram de

46,98 e 72,83%, respectivamente, enquanto para as cascas foram de 46,46 (DPPH•) e 70,34%(ABTS•+). Pelo método FRAP os valores foram de 2,14 (bagaço) e 1,51 μ M ET/g ex (cascas). Estes resultados demonstram que os resíduos apresentam compostos com atividade antioxidante considerável e que os extratos obtidos pela técnica de extração por micro-ondas apresentam atividade maior do que os extratos obtidos pela técnica por ultrassom.

Através da espectrometria de massas de alta resolução foi possível propor 39 marcadores químicos para os extratos do bagaço de manga e 26 para os extratos das cascas, sendo considerados como compostos característicos aqueles que estão presentes na maioria dos extratos, sendo eles a mangiferina, D-fructopiranosose e β -glucogalina.

O composto que apresenta maior abundância nos extratos do bagaço de manga, obtido nas condições ótimas de micro-ondas, é o ácido α -D-galacturônico e para os extratos EAU e de macerações obtidos pela condição ótima do ultrassom foram o ácido ftálico (EAU), o ácido salicílico (MC-5min) e o ácido D-arabinônico (MC-1h). Nas cascas, os extratos obtidos por EAU, EAM e macerações nas condições ótimas de micro-ondas, o ácido glucônico apresentou maior abundância, enquanto a purpurina foi mais abundante nos extratos de maceração obtidos nas condições ótimas de ultrassom.

A partir desses dados, podemos ressaltar que as extrações assistidas por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM) são técnicas de extração a serem consideradas quando se deseja ter tanto um maior rendimento dos compostos químicos presentes nas matrizes vegetais estudadas neste trabalho, quanto também um maior valor de conteúdo de fenólicos totais. Ao comparar as duas técnicas, os extratos por micro-ondas apresentam maior rendimento, maiores conteúdos de fenólicos e flavonoides totais, como também apresenta maior atividade antioxidante em comparação com os extratos obtidos por ultrassom.

Vale ressaltar que, até nosso conhecimento, este é o primeiro relato de um trabalho de otimização da extração de componentes fenólicos do resíduo industrial bagaço de manga por extração assistida por ultrassom (EAU) e por micro-ondas (EAM). Também desconhecemos trabalhos que envolvam análises por espectrometria de massas de alta resolução que apresentasse

caracterização dos compostos presentes nos tipos de extratos preparados. Neste trabalho, pudemos propor a estrutura de 39 compostos para os extratos provenientes do resíduo bagaço de manga.

Desta forma acreditamos que nosso trabalho servirá como base para estudos futuros sobre a obtenção de compostos bioativos provenientes destes tipos de matrizes que culmina em um maior conhecimento e no aproveitamento dos resíduos industriais da fruta manga que, mesmo sendo rejeitos advindos de plantas, quando acumulados no meio ambiente podem afetar o solo e o lençol freático caso seus compostos não sejam degradados em tempo apropriado.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os extratos obtidos pelas duas condições ótimas do ultrassom e do micro-ondas foram enviados para a realização de ensaios citotóxicos e anticolinesterásico, onde aguarda-se os resultados. Assim também, a determinação do método cromatográfico para obter o *fingerprint* das amostras de bagaço e cascas de manga serão continuados. Além disso, será realizado as análises quimiométricas dos espectros de massas para auxiliar no entendimento das diferenças e semelhanças químicas entre os extratos dos resíduos.

7 REFERÊNCIAS

- [1] Akbay, H. E. G.; Dizge, N.; Kumbur, H. Enhancing biogas production of anaerobic co-digestion of industrial waste and municipal sewage sludge with mechanical, chemical, thermal, and hybrid pretreatment. *Bioresource Technology*, **2021**, 340,125688.
- [2] Serafim, A. C.; Gussakov, K. C.; Silva, F.; Coneglian, C. M. R.; Brito, N. N.; Sobrinho, G. D.; Tonso, S.; Pelegrini, R. chorume, impactos ambientais e possibilidades de tratamentos. *III Fórum de Estudos Contábeis*, **2003**, 1.
- [3] Sánchez, M., Laca, A., Laca, A., Díaz, M. Value-added products from fruit and vegetable wastes: a review. *Clean – Soil, Air, Water*, **2021**, 49, 2000376.
- [4] Singh, B.; Singh, J. P.; Kaur, A.; Singh, N. Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel. *Food Research International*, **2020**, 132, 109114.
- [5] Schnarr, L.; Segatto, M.L.; Olsson, O.; Zuin, V.G.; Kümmerer, K. Flavonoids as biopesticides - Systematic assessment of sources, structures, activities and environmental fate. *Science of The Total Environment*, **2022**, 824, 153781.
- [6] Wang, C. Ultrasonic extraction, composition analysis, in vitro antioxidant and antiproliferative activities of Mango kernel oil from Jinhua Mango kernel. *International Journal of Food Properties*, **2022**, 25(1), 924.
- [7] Albuquerque, M. A. C.; Levit, R.; Beres, C.; Bedani, R.; LeBlanc, A. M.; Saad, S. M. I.; LeBlanc, J. G. Tropical fruit by-products water extracts as sources of soluble fibres and phenolic compounds with potential antioxidant, anti-inflammatory, and functional properties. *Journal of Functional Foods*, **2019**, 52, 724.
- [8] Jyotshna; Srivastava, P.; Killadi, B.; Shanker, K. Uni-dimensional double development HPTLC-densitometry method for simultaneous analysis of mangiferin and lupeol content in mango (*Mangifera indica*) pulp and peel during storage. *Food Chemistry*, **2015**, 176, 91-98.

- [9] Jesus, R. A. Cromatografia líquida e análises quimiométricas na diferenciação química de acessos de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown e potenciais biológicos. Dissertação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, **2018**.
- [10] Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *Trends in Analytical Chemistry*, **2017**, 97, 159-178.
- [11] Chemat, F., & Khan, M. K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, **2011**, 18(4), 813-835.
- [12] Esclapez, M. D.; García-Pérez, J. V.; Mulet, A.; Cárcel, J. A. Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, **2011**, 3, 108-120.
- [13] Nascimento, P. E. S. Caracterização por espectrometria de massas dos flavonoides extraídos por técnicas assistidas por ultrassom e micro-ondas das folhas de *Croton grewoides* Baill. Ms. Dissertação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, **2023**.
- [14] Carregosa, J. C. Nova estratégia multicamada de aplicação da espectrometria de massas na química forense de petróleo. Dr. Tese, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, **2023**.
- [15] Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio 2019-2020 a 2029-2030. https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio_2019_20-a-2029_30.pdf/view (acessado em 15 de novembro de 2022).
- [16] Edwiges, T.; Frare, L.; Mayer, B.; Lins, L.; Triolo, J.M.; Flotats, X.; Silva, Costa, M.S.S.M. Influence of chemical composition on biochemical methane potential of fruit and vegetable waste. *Waste Management*, **2018**, 71, 618-625.
- [17] Eh Teet, S.; Hashim N., Recent advances of application of optical Imaging techniques for disease detection in fruits and vegetables: a review. *Food Control*, **2023**.

- [18] González-Sánchez, M. E.; Pérez-Fabiola, S.; Wong-Villarreal, A.; Bello-Mendoza, R.; Yañez-Ocampo, G. Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia. *Revista Argentina de Microbiología*, **2015**, 47(3), 229-235.
- [19] Dash, D. R.; Pathak, S. S.; Pradhan, R.C. Improvement in novel ultrasound-assisted extraction technology of high value-added components from fruit and vegetable peels. *Journal Food Process Engineering*, **2021**, 44, 13658.
- [20] Sagar, N. A.; Pareek, S.; Sharma, S.; Yahia, E.M.; Lobo, M.G. Fruit and vegetable waste: bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2018**, 17, 512-531.
- [21] Lourenço, S. C.; Campos, D. A.; Gómez-García, R.; Pintado, M.; Oliveira, M. C.; Santos, D. I.; Corrêa-Filho, L. C.; Moldão-Martins, M.; Alves, V. D. Optimization of natural antioxidants extraction from pineapple peel and their stabilization by spray drying. *Foods*, **2021**, 10, 1255.
- [22] Magama, P.; Chiyanzu, I.; Mulopo, J. A systematic review of sustainable fruit and vegetable waste recycling alternatives and possibilities for anaerobic biorefinery. *Bioresource Technology Reports*, **2022**, 18, 101031.
- [23] Kadzińska, J.; Janowicz, M.; Kalisz, S.; Bryś, J.; Lenart, A. An overview of fruit and vegetable edible packaging materials. *Packaging Technology and Science*, **2019**, 32, 483-484.
- [24] Kainat, S.; Arshad, M. S.; Khalid, W.; Khalid, M. Z.; Koraqi, H.; Afzal, M. F.; Noreen, S.; Aziz, Z.; Al-Farga, A. Sustainable novel extraction of bioactive compounds from fruits and vegetables waste for functional foods: a review. *International Journal of Food Properties*, **2022**, 25(1), 2457-476.
- [25] Batista, C. C. R.; Oliveira, M. S.; Araújo, M. E.; Rodrigues, A. M. C.; Botelho, J. R. S.; Souza Filho, A. P. S.; Machado, N. T.; Carvalho Junior, R. N. Supercritical CO₂ extraction of açai (*Euterpe oleracea*) berry oil: global yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp. *The Journal of Supercritical Fluids*, **2016**, 107, 364-369.

- [26] Mackela, I.; Kraujalis, P.; Baranauskiene, R.; Venskutonis, P. R. Biorefining of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) buds into high value aroma and antioxidant fractions by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, **2015**, 104, 291–300.
- [27] Reátegui, J. L. P.; Machado, A. P. F.; Barbero, G. F.; Rezende, C. A.; Martínez, J. Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. *The Journal of Supercritical Fluids*, **2014**, 94, 223–233.
- [28] Chen, M.; Yang, D.; Liu, S. Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidant capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peels. *International Journal of Food Science and Technology*, **2011**, 46, 1179.
- [29] Bustamante, A.; Hinojosa, A.; Robert, P.; Escalona, V. Extraction and microencapsulation of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* var. Wonderful) residues. *International Journal of Food Science and Technology*, **2017**, 52, 1452.
- [30] Moo-Huchin, V. M.; Moo-Huchin, M. I.; Estrada-León, R. J.; Cuevas-Glory, L.; Estrada-Mota, I. A.; Ortiz-Vázquez, E.; Betancur-Ancona, D.; Sauri-Duch, E. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, **2015**, 166, 17-22.
- [31] Kole, C. Compendium of Plant Genomes: The Mango Genome, 1^a edição.; *Springer Cham*: India, **2021**.
- [32] Wang, Z.; He, D.; Gao, W.; Li, M.; Wu, X.; Lv, J. Integrated transcriptomic and metabolomic analyses of ‘Guifei’ mango fruit flavor in an endospermic genotype and a mutated genotype without endosperm. *Scientia Horticulturae*, **2022**, 303, 1-11.
- [33] Tharanathan, R. N.; Yashoda, H. M.; Prabha, T. N. Mango (*Mangifera indica* L.), “The King of Fruits” — An Overview. *Food Reviews International*, **2006**, 22 (2), 95-123.

- [34] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal: Produção de Manga. <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/manga/br> (acessado em 10 de maio de 2022).
- [35] Sivakumar, D.; Jiang, Y.; Yahia, Y. M. Maintaining mango (*Mangifera indica* L.) fruit quality during the export chain. *Food Research International*, **2011**, 44, 1254–1263.
- [36] Khan, A. S.; Ali, S.; Khan, I. A.; 2015. Morphological and molecular characterization and evaluation of mango germplasm: an overview. *Scientia Horticulturae*, **2015**, 194, 353–366.
- [37] Lenucci, M. S.; Tornese, R.; Mita, G.; Durante, M. Bioactive compounds and antioxidant activities in different fractions of mango fruits (*Mangifera indica* L., Cultivar Tommy Atkins and Keitt). *Antioxidants*, **2022**, 11, 484-505.
- [38] Yahia, E. M. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: 22 - Mango (*Mangifera indica* L.). *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, **2011**, 492-565.
- [39] Maldonado-Celis, M. E.; Yahia, E. M.; Bedoya, R.; Landázuri, P.; Loango, N.; Aguillón, J.; Restrepo, B.; Ospina, J. C. G. Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: nutritional and phytochemical compounds. *Frontiers in Plant Science*, **2019**, 10, 1-21.
- [40] Kumar, R.; Tsvetkov, D. E.; Varshney, V. K.; Nifantiev, N. E. Chemical constituents from temperate and subtropical trees with reference to knotwood. *Industrial Crops & Products*, **2020**, 145, 112077.
- [41] Chowdhury, S.; Poddar, S. K.; Zaheen, S.; Noor, F. A.; Ahmed, N.; Haque, S.; Sukul, A.; Sunjida, S. B.; Mazumder, M. M. U.; Akbar, N. Phytochemical screening and evaluation of cytotoxic and hypoglycemic properties of *Mangifera indica* peels. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **2017**, 7(1), 49-52.
- [42] Algarni, A.; Fayomi, A.; Garalleh, H. A.; Afandi, A.; Brindhadevi, K.; Pugazhendhi, A. Nanofabrication synthesis and its role in antibacterial, anti-inflammatory, and anticoagulant activities of AgNPs synthesized by *Mangifera indica* bark extract. *Environmental Research*, **2023**, 231(1), 115983.

- [43] Coelho, E. M.; Souza, M. E. A. O.; Corrêa, L. C.; Viana, A. C.; Azevêdo, L. C.; Lima, M. S. Bioactive compounds and antioxidant activity of mango peel liqueurs (*Mangifera indica* L.) produced by different methods of maceration. *Antioxidants*, **2019**, 8, 102-113.
- [44] Deng, Z.; Pan, Y.; Chen, W.; Chen, W.; Yun, Y.; Zhong, Q.; Zhang, W.; Chen, H. Effects of cultivar and growth region on the structural, emulsifying and rheological characteristic of mango peel pectin. *Food Hydrocolloids*, **2020**, 103, 105707.
- [45] Rojas, R.; Contreras-Esquivel, J. C.; Orozco-Esquivel, M. T.; Muñoz, C.; Aguirre-Joya, J. A.; Aguilar, C. N. Mango peel as source of antioxidants and pectin: microwave assisted extraction. *Waste Biomass Valor*, **2015**, 6, 1095-1102.
- [46] Hsu, S.; Lu, C.; Chiu, K.; Lee, M.; Lin, T.; Wang, S. Mangiferin depresses vesicular glutamate release in synaptosomes from the rat cerebral cortex by decreasing synapsin I phosphorylation. *European Journal of Pharmacology*, **2023**, 950.
- [47] Kim, H.; Banerjee, N.; Barnes, R. C.; Pfent, C. M.; Talcott, S. T.; Dashwood, R. H.; Mertens-Talcott, S. U. Mango polyphenolics reduce inflammation in intestinal Colitis—Involvement of the miR-126/PI3K/AKT/mTOR Axis *in vitro* and *in vivo*. *Molecular Carcinogenesis*, **2017**, 56, 197-207.
- [48] Kima, H.; Venancio, V. P.; Fanga, C.; Dupontb, A. W.; Talcott, S. T.; Mertens-Talcott, S. U. Mango (*Mangifera indica* L.) polyphenols reduce IL-8, GRO, and GM-SCF plasma levels and increase *Lactobacillus* species in a pilot study in patients with inflammatory bowel disease. *Nutrition research*, **2020**, 75, 85-94.
- [49] Pranil, T.; Moongngarm, A.; Manwiwattanakul, G.; Loypimai, P.; Kerr, W. L. Melatonin and its derivative contents in tropical fruits and fruit tablets. *Journal of Food Composition and Analysis*, **2021**, 103, 104109.
- [50] Braga, G. C.; Melo, P. S.; Bergamaschi, K. B.; Tiveron, A. P.; Massarioli, A. P.; Alencar, S. M. Extraction yield, antioxidant activity and phenolics from grape, mango and peanut agro-industrial by-products. *Ciência Rural*, **2016**, 46(8), 1498-1504.

- [51] Herrera-Cazares, L. A.; Hernández-Navarro, F.; Ramírez-Jiménez, A. K.; Campos-Vega, R.; Reyes-Vega, M. L.; Loarca-Piña, G.; Morales-Sánchez, E.; Wall-Medranod, A.; Gaytán-Martínez, M. Mango-bagasse functional-confectionery: vehicle for enhancing bioaccessibility and permeability of phenolic compounds. *Food Function*, **2017**, 8, 3906-3916.
- [52] Herrera-Cazares, L. A.; Ramírez-Jiménez, A. K.; Wall-Medrano, A.; Campos-Vega, R.; Loarca-Piña, G.; Reyes-Vega, M. L.; Vázquez-Landaverde, P. A.; Gaytán-Martínez, M. Untargeted metabolomic evaluation of mango bagasse and mango bagasse based confection under in vitro simulated colonic fermentation. *Journal of Functional Foods*, **2019**, 54, 271-280.
- [53] Herrera-Cazares, L. A.; Luzardo-Ocampo, I.; Ramírez-Jiménez, A. K.; Gutiérrez-Urbe, J. A.; Campos-Vega, R.; Gaytán-Martínez, M. Influence of extrusion process on the release of phenolic compounds from mango (*Mangifera indica* L.) bagasse-added confections and evaluation of their bioaccessibility, intestinal permeability, and antioxidant capacity. *Food Research International*, **2021**, 148, 110591.
- [54] Herrera-Cazares, L. A.; Ramírez-Jiménez, A. K.; Luzardo-Ocampo, I.; Antunes-Ricardo, M.; Loarca-Piña, G.; Wall-Medrano, A.; Gaytán-Martínez, M. Gastrointestinal metabolism of monomeric and polymeric polyphenols from mango (*Mangifera indica* L.) bagasse under simulated conditions. *Food Chemistry*, **2021**, 365, 130528.
- [55] Destandau, E.; Michel, T.; Elfakir, C. Microwave-assisted extraction. in natural product extraction: principles and applications. *The Royal Society of Chemistry*, London, UK, **2013**, 113–156.
- [56] Picot-Allain, C.; Mahomoodally, M. F.; Ak, G.; Zengin, G. Conventional versus green extraction techniques — a comparative perspective. *Current Opinion in Food Science*, **2021**, 40, 144-156.
- [57] Bagade, S. B.; Patil, M. Recent advances in microwave assisted extraction of bioactive compounds from complex herbal samples: a review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **2021**, 51(2), 138-149.

- [58] Akhtar, I.; Javad, S.; Yousaf, Z.; Iqbal, S.; Jabeen, K. Microwave assisted extraction of phytochemicals an efficient and modern approach for botanicals and pharmaceuticals. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019, 32(1), 223-230.
- [59] Sousa, C. B. C.; Anjos, G. L.; Nóbrega, R. S. A.; Magaton, A. S.; Miranda, F. M.; Dias, F. S. Greener ultrasound-assisted extraction of bioactive phenolic compounds in *Croton heliotropiifolius* Kunth leaves. *Microchemical Journal*, **2020**, 159, 1-7.
- [60] Pengdeea, C.; Sritularak, B.; Putaluna, W. Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds in *Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl. and glucose uptake activity. *South African Journal of Botany*, **2020**, 132, 423-431.
- [61] Hilbig, J.; Alves, V. R.; Müller, C. M. O.; Micke, G. A.; Vitali, L.; Pedrosa, R. C.; Block, J. M. Ultrasonic-assisted extraction combined with sample preparation and analysis using LC-ESI-MS/MS allowed the identification of 24 new phenolic compounds in pecan nut shell [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] extracts. *Food Research International*, **2018**, 106, 549-557.
- [62] Akbari, S.; Abdurahman, N. H.; Yunus, R. M.; Alsaggaf, A. H. A.; Ahmed, N. LC-QTOF-MS analysis of phenolics and saponins extracted from *Aloe vera* leaves via microwave technology in optimal condition. *South African Journal of Botany*, **2021**, 139, 362-373.
- [63] Saifullah, M.; Mccullum, R.; Mccluskey, A.; Vuong, Q. Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves. *Heliyon*, **2020**, 6, 1-12.
- [64] Kaanin-Boudra, G.; Brahmi, F.; Wrona, M.; Nerín, C.; Moudache, M.; Mouhoubi, K.; Madani, K.; Boulekbache-Makhlouf, L. Response surface methodology and UPLC-QTOF-MSE analysis of phenolic compounds from grapefruit (*Citrus X paradisi*) by-products as novel ingredients for new antioxidant packaging. *LWT - Food Science and Technology*, **2021**, 151, 112158-112169.

- [65] Zin, M.M.; Anucha, C.B.; Bánvölgyi, S. recovery of phytochemicals via electromagnetic irradiation (Microwave-Assisted-Extraction): betalain and phenolic compounds in perspective. *Foods*, **2020**, 9, 918.
- [66] Nipornram, S.; Tochampa, W.; Rattanatraiwong, P.; Singanusong, R. Optimization of low power ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from mandarin (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sainampueng) peel. *Food Chemistry*, **2018**, 241, 338-345.
- [67] Liu, Y.; Wei, S.; Liao, M. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Euryale ferox* seed shells using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, **2013**, 49, 837-843.
- [68] Feki, F.; Klisurova, D.; Masmoudi, M. A.; Choura, S.; Denev, P.; Trendafilova, A.; Chamkha, M.; Sayadi, S. Optimization of microwave assisted extraction of simmondsins and polyphenols from Jojoba (*Simmondsia chinensis*) seed cake using Box-Behnken statistical design. *Food Chemistry*, **2021**, 356, 129670.
- [69] Alara, O. R.; Abdurahman, N. H.; Ali, H. A.; Zain, N. M. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from *Carica papaya* leaves: An optimization study and LC-QTOF-MS analysis. *Future Foods*, **2021**, 3, 100035.
- [70] Rodsamrana, P.; Sothornvit, R. Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonicassisted and microwave-assisted extractions. *Food Bioscience*, **2019**, 28, 66-73.
- [71] Kaderides, K.; Papaoikonomou, L.; Serafim, M.; Goula, A. M. Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, **2019**, 137, 1–11.
- [72] Banerjee, J.; Singh, R.; Vijayaraghavan, R.; MacFarlane, D.; Patti, A.F.; Arora, A. A hydrocolloid based biorefinery approach to the valorisation of mango peel waste. *Food Hydrocolloids*, **2018**, 77, 142.
- [73] Luo, X.; Cui, J.; Zhang, H.; Duan, Y.; Zhang, D.; Cai, M.; Chen, G. Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities and polyphenolic compositions. *Industrial Crops & Products*, **2018**, 112, 296-304.

- [74] Lenucci, M. S.; Tornese, R.; Mita, G.; Durante, M. Bioactive compounds and antioxidant activities in different fractions of mango fruits (*Mangifera indica* L., Cultivar Tommy Atkins and Keitt). *Antioxidants*, **2022**, 11, 484.
- [75] Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, **1995**, 28(1), 25–30.
- [76] RE, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **1999**, 26(9–10), 1231–1237.
- [77] OYAIKU, M. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese of Nutrition and Dietetics*, **1986**, 44(6), 307–315.
- [78] Shirsath, S. R.; Sablea, S. S.; Gaikwad, S. G.; Sonawane, S. H.; Saini, D. R.; Gogate, P. R. Intensification of extraction of curcumin from *curcuma amada* using ultrasound assisted approach: effect of different operating parameters. *Ultrasonics Sonochemistry*, **2017**, 38, 437-445.
- [79] Wong, K. H.; Li, G. Q.; Li, K. M.; Razmovski-Naumovski, V.; Chan, K. Optimisation of Pueraria isoflavonoids by response surface methodology using ultrasonic-assisted extraction. *Food Chemistry*, **2017**, 231, 231-237.
- [80] Dzah, C. S. Optimized ultrasound-assisted recovery, HPLC/LC-MS identification and biological activities of *Tetrapleura tetraptera* L. dry fruit polyphenols. *Food Chemistry Advances*, **2022**, 1, 100093.
- [81] Wang, X.; Liu, X.; Shi, N.; Zhang, Z.; Chen, Y.; Yan, M.; Li, Y. Response surface methodology optimization and HPLC-ESI-QTOF-MS/MS analysis on ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from okra (*Abelmoschus esculentus*) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, **2023**, 405, 134966.
- [82] Ali, A.; Lim, X. Y.; Chong, C. H.; Mah, S. H.; Chua, B. L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from Piper betle using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 2018, 89, 681-688.

- [83] Weremfo, A.; Adulley, F.; Dabie, K.; Abassah-Oppong, S.; Peprah-Yamoah, E. Optimization Of Ultrasound-Assisted Extraction Of Phenolic Antioxidants From Turkey Berry (*Solanum Torvum* Sw) fruits using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, **2022**, 30, 100387.
- [84] Ahmed, T.; Rana, M. R.; Maisha, M. R.; Sayem, A.S.M; Rahman, M.; Ara, R. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of Hog Plum (*Spondias Pinnata* L. F. Kurz) Pulp By Response Surface Methodology. *Heliyon*, **2022**, 8, 11109.
- [85] Muchahary, S.; Deka, S. C. Impact of supercritical fluid extraction, ultrasound-assisted extraction, and conventional method on the phytochemicals and antioxidant activity of Bhimkol (*Musa Balbisiana*) banana blossom. *Journal of Food Processing and Preservation*, **2021**, 45, 15639.
- [86] Ojeda, G. A.; Sgroppo, S. C.; Sánchez-Moreno, C.; Ancos, B. Mango 'Criollo' by-products as a source of polyphenols with antioxidante capacity. ultrasound assisted extraction evaluated by response surface methodology and HPLC-ESI-QTOF-MS/MS characterization. *Food Chemistry*, **2022**, 396, 133738.
- [87] Jovanović, A. A.; Vajić, U. V.; Mijin, D. Z.; Zdunić, G. M.; Šavikin, K. P.; Branković, S.; Kitić, D.; Bugarski, B. M. Polyphenol extraction in microwave reactor using by-product of thymus serpyllum l. and biological potential of the extract. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, **2022**, 31, 100417.
- [88] Sánchez-Camargo, A. P.; Ballesteros-Vivas, D.; Buelvas-Puello, L. M.; Martinez-Correa, H. A.; Parada-Alfonso, F.; Cifuentes, A.; Ferreira, S. R.S.; Gutiérrez, L. Microwave-Assisted Extraction of phenolic compounds with antioxidant and anti-proliferative activities from supercritical CO₂ pre-extracted mango peel as valorization strategy. *LWT*, **2021**, 137, 110414.
- [89] Guerra, A. P.; Garcia, V. A. S.; Silva, C. Optimization of extraction compounds phenolics from mango peel (Tommy atkins) using ultrasound-assisted process. *E-xacta*, **2016**, 9(1), 103-110.

- [90] Alara, O. R.; Abdurahman, N. H.; Mudalip, S. K. A.; Olalere, O. A. Microwave-assisted extraction of vernonia amygdalina leaf for optimal recovery of total phenolic content. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, **2018**, 10, 16-24.
- [91] Moreira, M. M.; Barroso, M. F.; Boeykens, A.; Withouck, H.; Morais, S.; Delerue-Matos, C. Valorization of apple tree wood residues by polyphenols extraction: comparison between conventional and microwave-assisted extraction. *Industrial Crops & Products*, **2017**, 104, 210-220.
- [92] Rostagno, M. A.; Prado, J. M. Natural Product Extraction: Principles and Applications. *RSC Green Chemistry*, University of Campinas, Brazil, **2013**, 21, 1-152.
- [93] Wani, K. M.; Uppaluri, R. V. S. Efficacy of ultrasound-assisted extraction of bioactive constituents from Psidium guajava leaves. *Applied Food Research*, **2022**, 2, 100096.
- [94] Meregalia, M. M.; Puton, B. M. S.; Camera, F. D.; Amaral, A. U.; Zenia, J.; Cansiana, R. L.; Mignonia, M. L.; Backes, G. T. Conventional and ultrasound-assisted methods for Extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine). *Arabian Journal of Chemistry*, **2020**, 13 5800-5809.
- [95] Abbas, M.; Ahmed, D.; Qamar, M. T.; Ihsan, S.; Noor, Z. I. Optimization of ultrasound-assisted, microwave-assisted and Soxhlet extraction of bioactive compounds from *Lagenaria siceraria*: a comparative analysis. *Bioresource Technology Reports*, **2021**, 15, 100746.
- [96] Zeković, Z.; Cvetanović, A.; Švarc-Gajić, J.; Gorjanović, S.; Sužnjević, D.; Mašković, P.; Savić, S.; Radojković, M.; Đurović, S. Chemical and biological screening of stinging nettle leaves extracts obtained by modern extraction techniques. *Industrial Crops & Products*, **2017**, 108, 423-430.
- [97] Xiao, W.; Han, L.; Shi, B. Microwave-assisted extraction of flavonoids from Radix Astragali. *Separation and Purification Technology*, 2008, 62, 614-618.
- [98] Zhang, H.; Zhang, X.; Yang, X.; Qiu, N.; Wang, Y.; Wang, Z. Microwave assisted extraction of flavonoids from cultivated Epimedium sagittatum:

Extraction yield and mechanism, antioxidant activity and chemical composition. *Industrial Crops and Products*, **2013**, 50, 857-865.

[99] Ajila, C. M.; Aalami, M.; Leelavathi, K.; Rao, U. J. S. P. Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **2010**, 11, 219-224.

[100] Sadeef, Y.; Javed, T.; Javed, R.; Mahmood, A.; Alwahibi, M. S.; Elshikh, M. S.; AbdelGawwa, M. R.; Alhaji, J. H.; Rasheed, R. A. Nutritional status, antioxidant activity and total phenolic content of different fruits and vegetables' peels. *PLoS ONE*, **2022**, 17(5), 1-9.

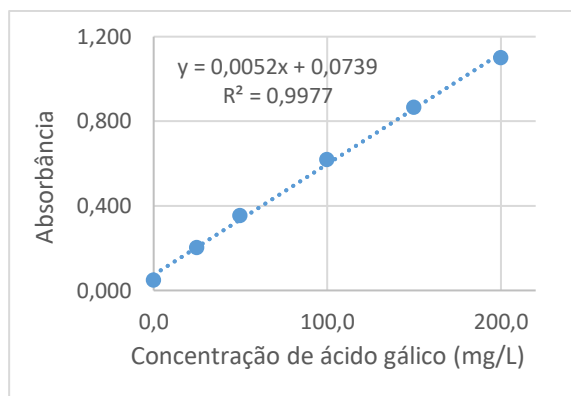
[101] Dantas, A. M.; Fernandes, F. G.; Magnani, M.; Borges, G. S. C. Gastrointestinal Digestion Assays For Evaluating The bioaccessibility of phenolic compounds in fruits and their derivates: an overview. *Food Research International*, **2023**, 170, 112920.

[102] Ybañez-Julca, R. O.; Asunción-Alvarez, D.; Quispe-Díaz, I. M.; Palacios, J.; Bórquez, J.; Simirgiotis, M. J.; Perveen, S.; Nwokocha, C. R.; Cifuentes, F.; Paredes, F. Metabolomic profiling of mango (*Mangifera indica* Linn) leaf extract and its intestinal protective effect and antioxidant activity in different biological models. *Molecules*, **2020**, 25, 5149.

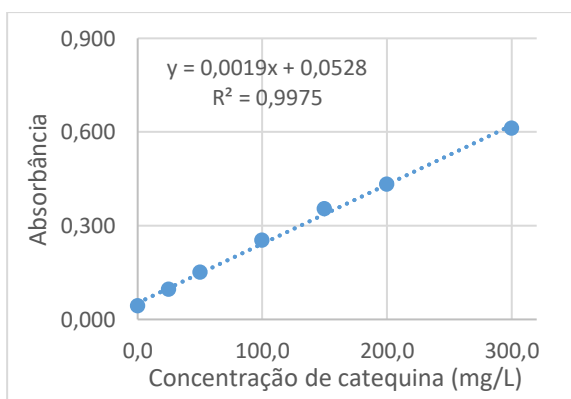
APÊNDICE

Figura 1A: Curva de calibração para a determinação do conteúdo de fenólicos totais (A) do ácido gálico (0-200 mg L⁻¹), para a determinação do conteúdo de flavonoides totais (B) da catequina (0-300 mg L⁻¹) e para a determinação do poder antioxidante redutor férrico (FRAP) (C) do Trolox (100-2000 µM).

(A)



(B)



(C)

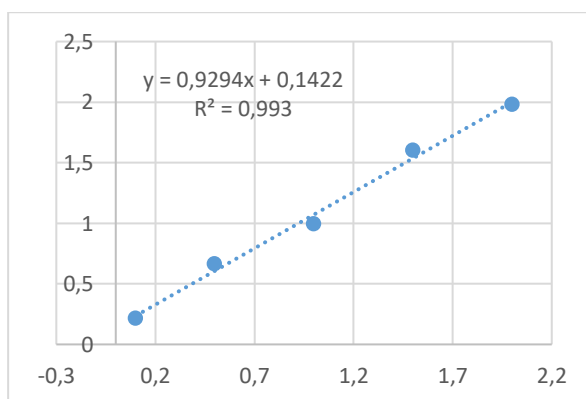


Figura 2A: Gráfico de desejabilidade que mostra as condições de extração obtida pela extração assistida por ultrassom (EAU) que resulta na otimização simultânea do rendimento e do conteúdo de fenólicos totais (TPC) a partir do resíduo de bagaço de manga.

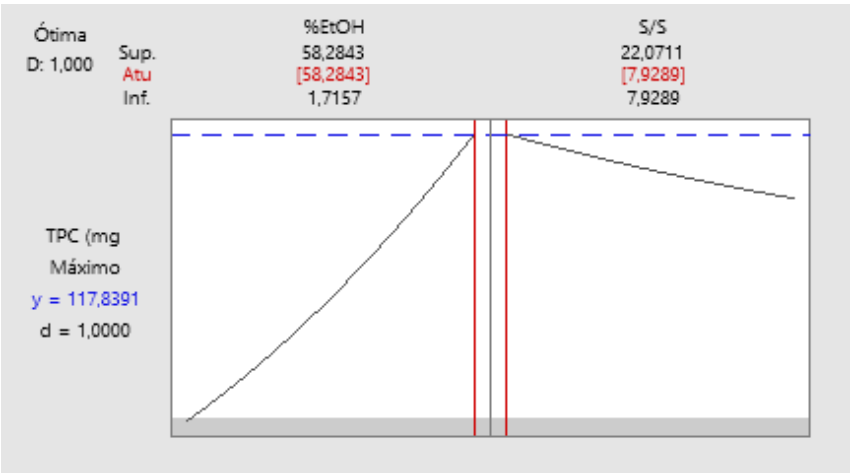


Figura 3A: Gráfico de desejabilidade que mostra as condições de extração obtida pela extração assistida por micro-ondas (EAM) que resulta na otimização simultânea do rendimento e do conteúdo de fenólicos totais (TPC) a partir do resíduo de bagaço de manga.

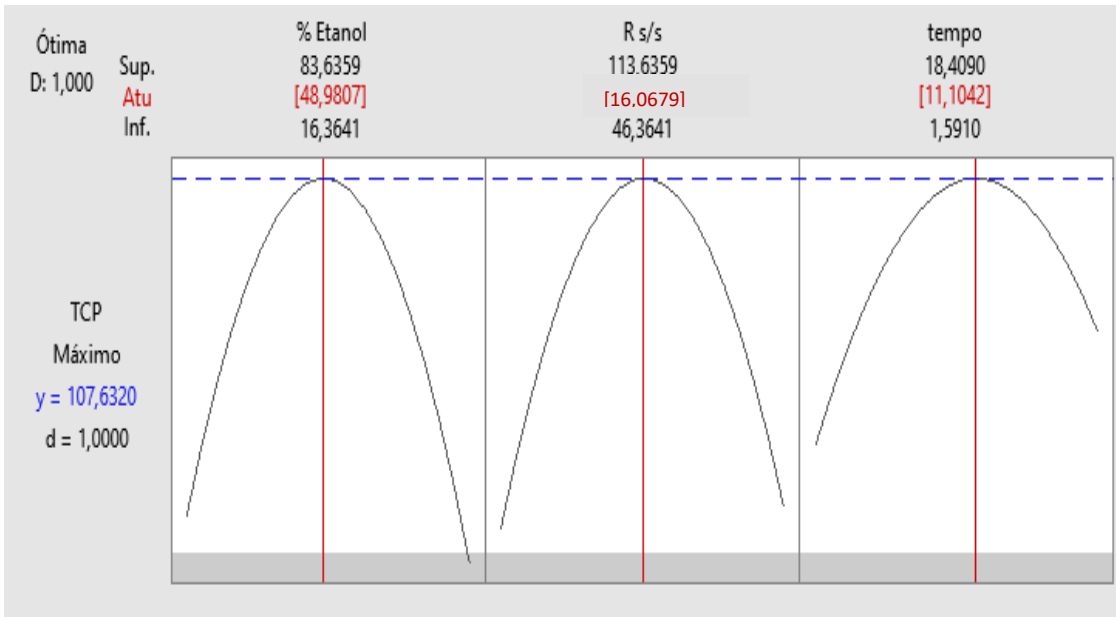
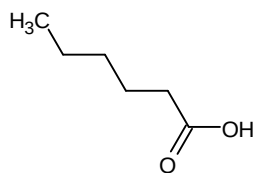
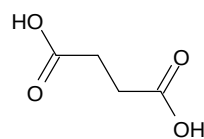


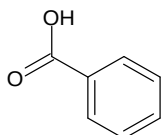
Figura 4A: Estruturas químicas dos compostos dos marcadores químicos presentes nos extratos de bagaço de manga.



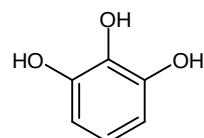
(1B) Ácido hexanóico



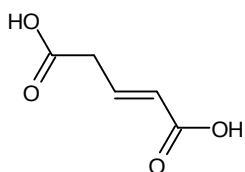
(2B) Ácido succínico



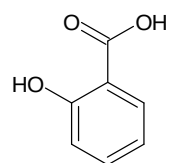
(3B) Ácido benzóico



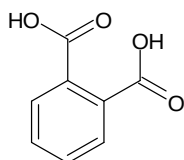
(4B) Pirogalol



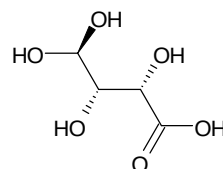
(5B) Ácido glutacônico



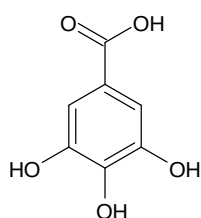
(6B) Ácido salicílico



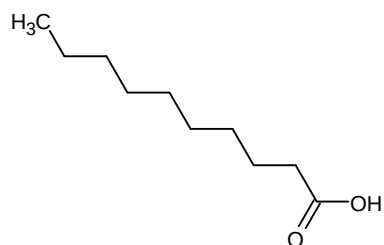
(7B) Ácido ftálico



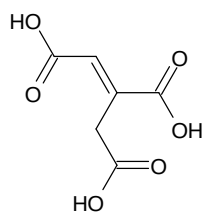
(8B) Ácido D-arabinônico



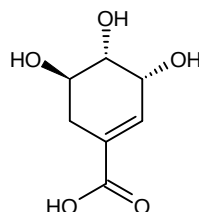
(9B) Ácido gálico



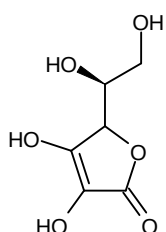
(10) Ácido decanóico



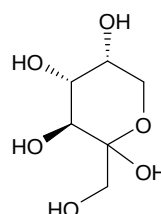
(11B) Ácido *trans*-aconítico



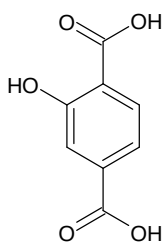
(12B) Ácido chiquimico



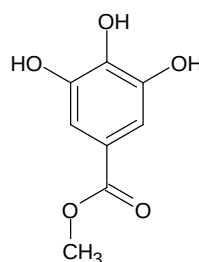
(13) Ácido ascórbico



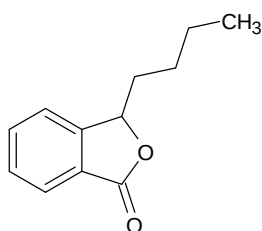
(14B) D-fructopiranoose



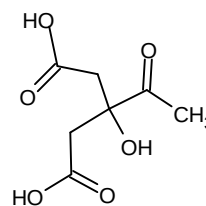
(15B) Ácido 2-hidroxitereftálico



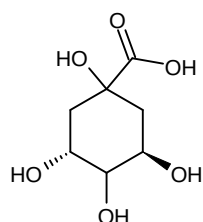
(16B) Galato de metila



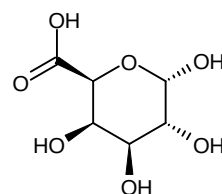
(17B) Butilftalida



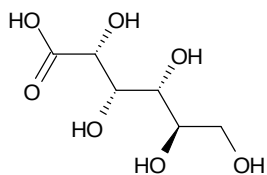
(18B) Ácido cítrico



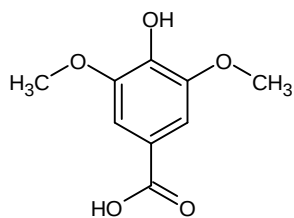
(19B) Ácido quínico



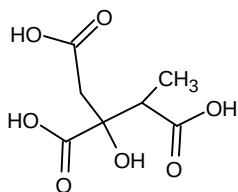
(20B) Ácido α -D-galacturônico



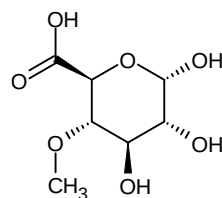
(21B) Ácido glucônico



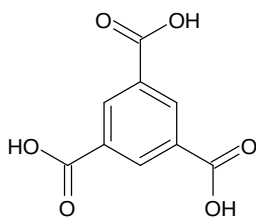
(22B) Ácido siríngico



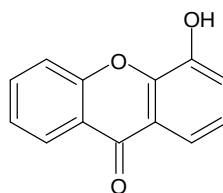
(23B) Ácido 2-metilcítrico



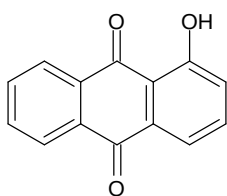
(24B) Ácido 4-O-metil-α-D-glucurônico



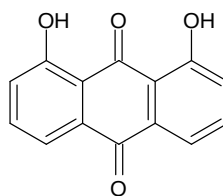
(25B) Ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico



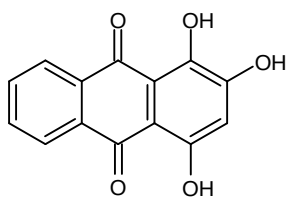
(26B) 4-hidroxixantona



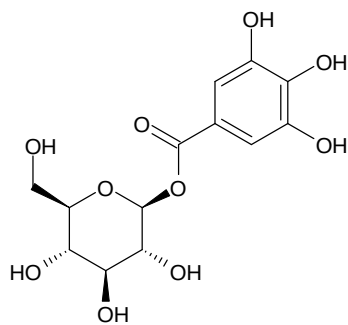
(27B) 1-hidroxiantraquinona



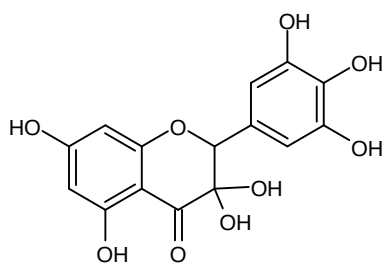
(28B) 1,8-dihidroxiantraquinona



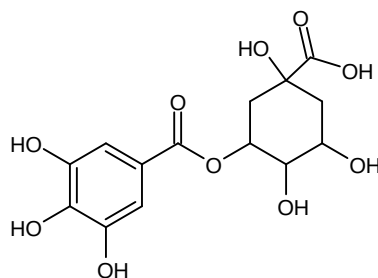
(29B) Purpurina



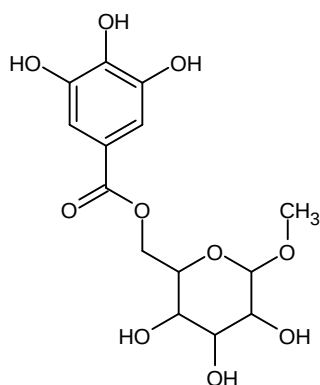
(30B) β-glucogalina



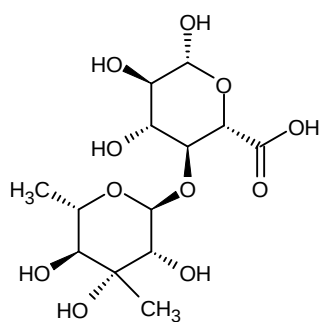
(31B) 3,5,7,3',4',5'-
hexahydroxiflavonol



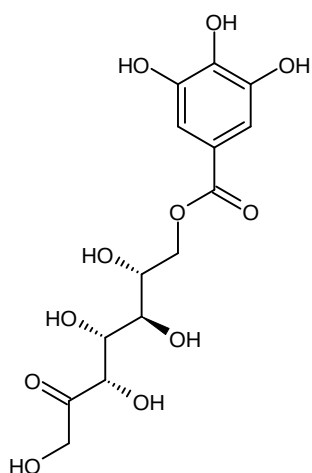
(32B) Ácido 1,3,4-trihidroxi-5-(3,4,5-
trihidroxibenzoil)-oxiciclohexano-1-
carboxílico



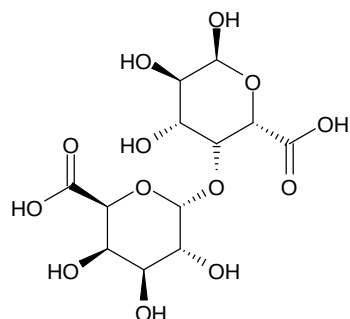
(33B) Metil 6-O-galoil-b-D-
glucopiranosídeo



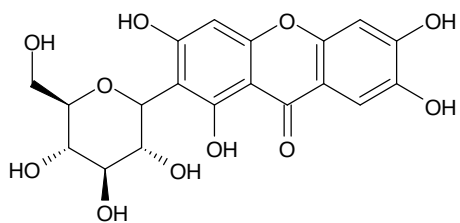
(34B) ácido (2S,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-
trihidroxi-3-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-
trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2-
il]oxioxano-2-carboxílico



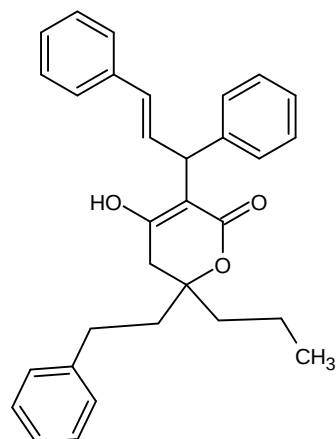
(35B) 7-O-galloil-sedoheptulose



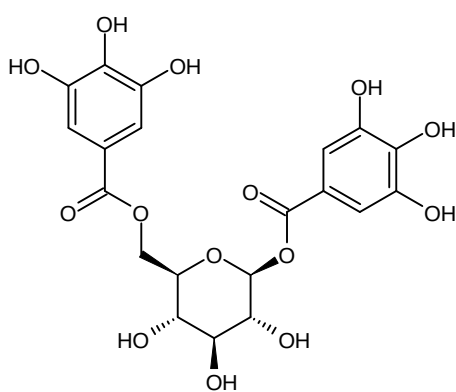
(36B) Ácido digalacturônico



(37B) Mangiferina

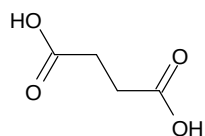


(38B) 5-[(E)-1,3-difenilalil]-4-hidroxi-2-fenetil-2-propil-3H-piran-6-ona

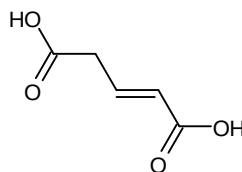


(39B) 1,6-bis-O-galloyl- β -D-glucose

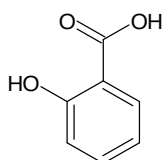
Figura 5A: Estruturas químicas dos compostos dos marcadores químicos presentes nos extratos das cascas de manga.



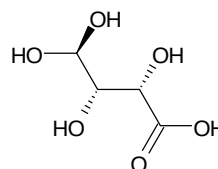
(1C) Ácido succínico



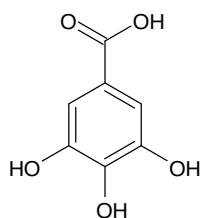
(2C) Ácido glutacônico



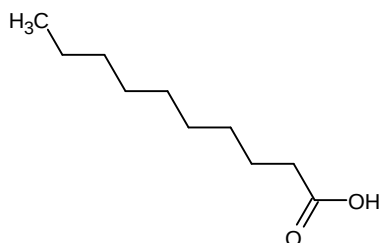
(3C) Ácido salicílico



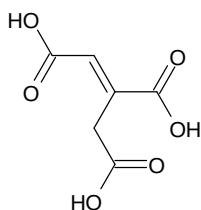
(4C) Ácido D-arabinônico



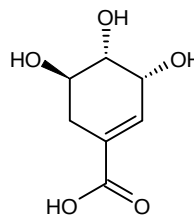
(5C) Ácido gálico



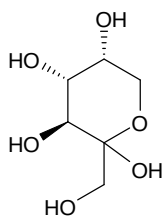
(6C) Ácido decanóico



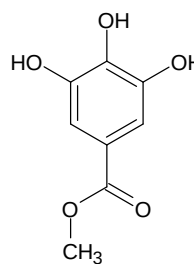
(7C) Ácido *trans*-aconítico



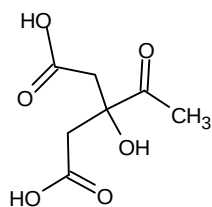
(8C) Ácido chiquímico



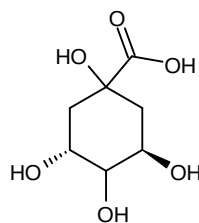
(9C) D-fructopirranose



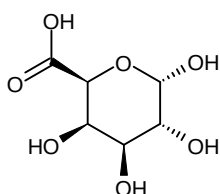
(10C) Galato de metila



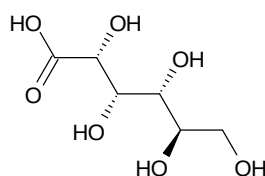
(11C) Ácido cítrico



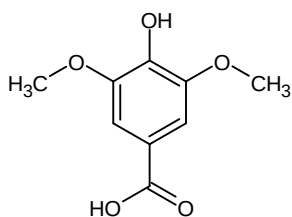
(12C) Ácido quínico



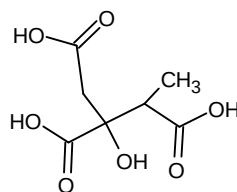
(13C) Ácido α-D-galacturônico



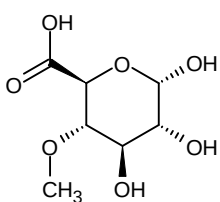
(14C) Ácido glucônico



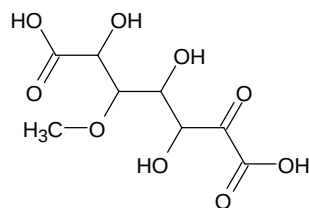
(15C) Ácido siríngico



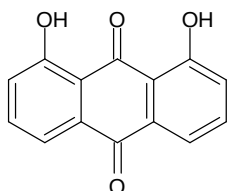
(16C) Ácido 2-metilcítrico



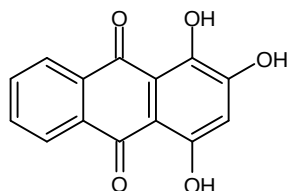
(17C) Ácido 4-O-metil-α-D-glucurônico



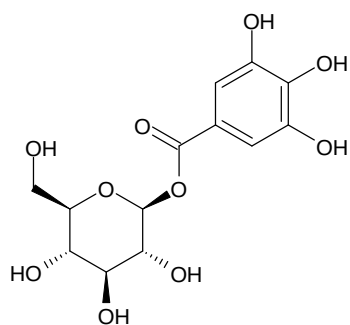
(18C) Ácido 2,4,5-trihidroxi-3-metoxihexanodióico



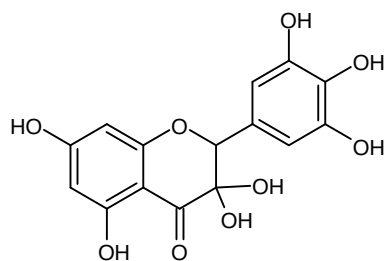
(19C) 1,8-dihidroxi-antraquinona



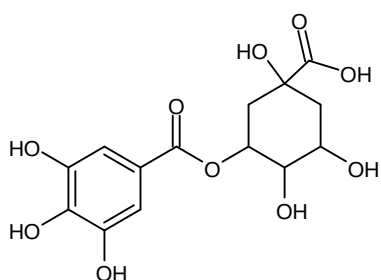
(20C) Purpurina



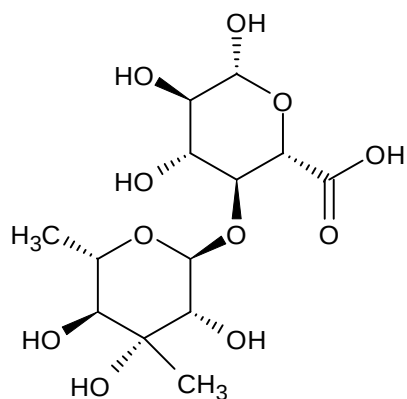
(21C) β -glucogalina



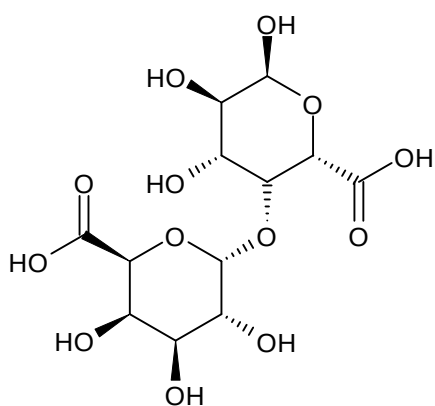
(22C) 3,5,7,3',4',5'-
hexahidroxi flavonol



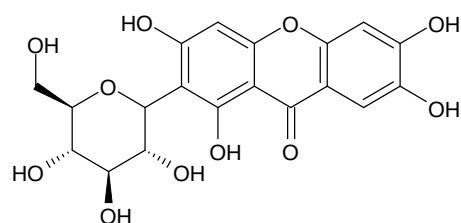
(23C) Ácido 1,3,4-trihidroxi-5-(3,4,5-trihidroxibenzoil)-oxiciclohexano-1-carboxílico



(24C) (2S,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-trihidroxi-3-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2 ácido -il]oxioxano-2-carboxílico



(25C) Ácido digalacturônico



(26C) Mangiferina

Tabela 1A: Dados dos compostos fenólicos propostos por HRMS presentes nos extratos de bagaço de manga obtidos por extração assistida por ultrassom e maceração (5 minutos, 1 hora e 24 horas).

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAU			MC-5min			MC-1h			MC-24h		
				Dados experimentais											
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
1B	Ácido hexanóico	115,07645	C ₆ H ₁₂ O ₂	115,07647	0,18	0,41	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2B	Ácido succínico	117,01933	C ₄ H ₆ O ₄	-	-	-	117,01942	0,77	10,06	117,01943	0,84	11,23	117,01943	0,85	14,86
3B	Ácido benzóico	121,02950	C ₇ H ₆ O ₂	121,02959	0,73	15,67	121,02958	0,67	10,33	121,02953	0,23	0,86	121,02954	0,32	3,13
4B	Pirogalol	125,02442	C ₆ H ₆ O ₃	-	-	-	125,02442	0,00	1,35	125,02442	0,03	1,55	125,02442	0,03	1,35
5B	Ácido glutacônico	129,01933	C ₅ H ₆ O ₄	-	-	-	129,01938	0,37	1,63	129,01937	0,32	2,29	129,01938	0,38	3,23
6B	Ácido salicílico	137,02442	C ₇ H ₆ O ₃	137,02442	0,03	5,35	137,02440	-0,12	3,45	137,02440	-0,14	1,07	137,02439	-0,19	2,24
7B	Ácido ftálico	165,01933	C ₈ H ₆ O ₄	165,01927	-0,37	100,00	165,01929	-0,28	100,00	165,01927	-0,35	0,65	165,01930	-0,17	26,74
8B	Ácido D-arabinônico	165,04046	C ₅ H ₁₀ O ₆	-	-	-	165,04031	-0,89	2,00	165,04040	-0,35	2,07	165,04039	-0,40	4,22
9B	Ácido gálico	169,01425	C ₇ H ₆ O ₅	-	-	-	169,01425	0,04	86,29	169,01427	0,16	100,00	169,01426	0,10	83,48
10B	Ácido decanóico	171,13905	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	171,13900	-0,30	0,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11B	Ácido <i>trans</i> -acônico	173,00916	C ₆ H ₆ O ₆	-	-	-	173,00908	-0,48	2,07	173,00910	-0,34	2,37	173,00911	-0,31	3,83
12B	Ácido chiquímico	173,04555	C ₇ H ₁₀ O ₅	-	-	-	173,04548	-0,36	24,94	173,04550	-0,27	25,46	173,04550	-0,26	44,61
13B	Ácido ascórbico	175,02481	C ₆ H ₈ O ₆	-	-	-	175,02475	-0,38	1,66	175,02476	-0,29	1,65	175,02476	-0,31	4,41
14B	D-fructopirranose	179,05611	C ₆ H ₁₂ O ₆	-	-	-	179,05610	-0,05	2,27	179,05608	-0,17	1,29	179,05611	-0,02	2,68
15B	Ácido 2-hidroxitereftálico	181,01425	C ₈ H ₆ O ₅	181,01425	0,00	1,67	181,01425	0,02	0,37	-	-	-	-	-	-
16B	Galato de metila	183,02990	C ₈ H ₈ O ₅	-	-	-	183,02983	-0,35	5,61	183,02981	-0,46	5,33	183,02983	-0,34	4,02
17B	Butilftalida	189,09210	C ₄ H ₆ O ₄	189,09154	-2,97	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18B	Ácido cítrico	191,01973	C ₆ H ₈ O ₇	-	-	-	191,01980	0,40	30,99	191,01982	0,47	41,08	191,01982	0,51	92,89
19B	Ácido quínico	191,05611	C ₇ H ₁₂ O ₆	-	-	-	191,05614	0,77	10,06	191,05615	0,18	21,54	191,05613	0,09	35,14

Continuação da Tabela 1A.

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAU			MC-5min			MC-1h			MC-24h		
				Dados experimentais											
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
20B	Ácido α-D-galacturônico	193,03538	C ₆ H ₁₀ O ₇	-	-	-	193,03532	0,67	10,33	193,03534	-0,21	61,70	193,03533	-0,23	100,00
21B	Ácido glucônico	195,05103	C ₆ H ₁₂ O ₇	-	-	-	195,05095	0,00	1,35	195,05096	-0,36	10,23	195,05094	-0,42	21,88
22B	Ácido siríngico	197,04555	C ₉ H ₁₀ O ₅	-	-	-	197,04550	0,37	1,63	197,04551	-0,18	23,43	197,04548	-0,31	16,24
23B	Ácido 2-metilcitríco	205,03538	C ₇ H ₁₀ O ₇	-	-	-	205,03527	-0,12	3,45	205,03527	-0,50	1,52	205,03527	-0,53	2,59
24B	Ácido 4-O-metil-α-D-glucurônico	207,05103	C ₇ H ₁₂ O ₇	-	-	-	207,05094	-0,28	100,00	207,05093	-0,48	2,01	207,05093	-0,45	3,15
25B	Ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico	209,00916	C ₉ H ₆ O ₆	209,00915	-0,06	1,08	209,00910	-0,89	2,00	-	-	-	-	-	-
26B	4-hidroxixantona	211,04007	C ₁₃ H ₈ O ₃	211,04003	-0,16	0,48	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27B	1-hidroxiantraquinona	223,04007	C ₁₄ H ₈ O ₃	223,04000	-0,30	0,69	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28B	1,8-dihidroxiantraquinona	239,03498	C ₁₄ H ₈ O ₄	239,03497	-0,04	1,54	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29B	Purpurina	255,02990	C ₁₄ H ₈ O ₅	255,02987	-0,09	0,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30B	β-glucogalina	331,06707	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	-	-	-	331,06710	-0,38	1,66	331,06709	0,07	3,00	331,06711	0,11	3,23
31B	3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavanol	335,04086	C ₁₅ H ₁₂ O ₉	-	-	-	335,04087	-0,05	2,27	335,04088	0,09	0,68	335,04091	0,17	1,18
32B	Ácido 1,3,4-trihidroxi-5-(3,4,5-trihidroxibenzoil)oxíciclohexano-1-carboxílico	343,06707	C ₁₄ H ₁₆ O ₁₀	-	-	-	343,06698	0,02	0,37	343,06701	-0,18	2,45	343,06702	-0,15	4,21
33B	Metil 6-O-galoi-b-D-glucopiranosídeo	345,08272	C ₁₄ H ₁₈ O ₁₀	-	-	-	345,08264	-0,35	5,61	-	-	-	-	-	-

Continuação da Tabela 1A.

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAU			MC-5min			MC-1h			MC-24h		
				Dados experimentais											
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
34B	ácido (2S,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-trihidroxi-3- [(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2-il]oxioxano-2-carboxílico	353,10893	C ₁₄ H ₁₈ O ₁₀	-	-	-	353,10892	-0,03	1,73	353,10893	-0,02	0,62	353,10890	-0,09	0,88
35B	7-O-galloil-sedoheptulose	361,07763	C ₁₃ H ₂₂ O ₁₁	-	-	-	361,07768	0,13	1,04	361,07766	0,07	1,43	361,07769	0,15	2,45
36B	Ácido digalacturônico	369,06746	C ₁₄ H ₁₈ O ₁₁	-	-	-	369,06733	-0,36	5,11	369,06734	-0,34	5,81	369,06735	-0,31	11,02
37B	Mangiferina	421,07763	C ₁₂ H ₁₈ O ₁₃	-	-	-	421,07771	0,19	3,30	421,07775	0,27	4,35	421,07775	0,28	4,28
38B	5-[(E)-1,3-difenilalil]-4-hidroxi-2-fenetil-2-propil-3H-piran-6-ona	451,22787	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	451,22869	1,82	1,30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39B	1,6-bis-O-galloil-β-D-oligose	483,07803	C ₃₁ H ₃₂ O ₃	-	-	-	483,07799	-0,07	1,04	483,07802	-0,02	1,27	483,07801	-0,03	1,45

Tabela 2A: Dados dos compostos fenólicos propostos por HRMS presentes nos extratos das bagaço de manga obtidos por extração assistida por micro-ondas e maceração (11 minutos e 24 horas).

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAM			MC-11min			MC-24h		
				Dados experimentais								
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
1B	Ácido hexanóico	115,07645	C ₆ H ₁₂ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2B	Ácido succínico	117,01933	C ₄ H ₆ O ₄	117,01943	0,84	17,03	117,01943	0,85	16,10	117,01943	0,80	15,22
3B	Ácido benzóico	121,02950	C ₇ H ₆ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4B	Pirogalol	125,02442	C ₆ H ₆ O ₃	125,02442	0,01	1,53	125,02440	-0,15	1,19	125,02441	-0,08	1,19
5B	Ácido glutacônico	129,01933	C ₅ H ₆ O ₄	129,01938	0,35	3,21	129,01938	0,35	2,83	129,01938	0,36	2,99
6B	Ácido salicílico	137,02442	C ₇ H ₆ O ₃	137,02440	-0,14	1,72	137,02440	-0,13	1,67	137,02440	-0,13	1,70
7B	Ácido ftálico	165,01933	C ₈ H ₆ O ₄	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8B	Ácido D-arabinônico	165,04046	C ₅ H ₁₀ O ₆	165,04040	-0,35	4,41	165,04041	-0,34	4,11	165,04041	-0,33	4,21
9B	Ácido gálico	169,01425	C ₇ H ₆ O ₅	169,01427	0,15	83,61	169,01428	0,17	69,86	169,01427	0,17	71,99
10B	Ácido decanóico	171,13905	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	171,13905	0,01	0,85	171,13907	0,08	0,68	171,13907	0,10	0,80
11B	Ácido trans-acônico	173,00916	C ₆ H ₆ O ₆	173,00911	-0,3	3,35	173,00911	-0,27	2,93	173,00911	-0,27	2,65
12B	Ácido chiquímico	173,04555	C ₇ H ₁₀ O ₅	173,04551	-0,22	48,80	173,04551	-0,19	48,60	173,04551	-0,19	50,65
13B	Ácido ascórbico	175,02481	C ₆ H ₈ O ₆	175,02477	-0,25	4,06	175,02477	-0,23	3,41	175,02476	-0,27	3,97
14B	D-fructopirranose	179,05611	C ₆ H ₁₂ O ₆	179,05609	-0,12	2,69	179,05609	-0,10	2,33	179,05609	-0,12	2,54
15B	Ácido 2-hidroxitereftálico	181,01425	C ₈ H ₆ O ₅	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16B	Galato de metila	183,02990	C ₈ H ₈ O ₅	183,02984	-0,29	36,15	183,02984	-0,32	22,38	183,02984	-0,32	21,26
17B	Butilftalida	189,09210	C ₄ H ₆ O ₄	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18B	Ácido cítrico	191,01973	C ₆ H ₈ O ₇	191,01981	0,46	51,64	191,01982	0,50	47,58	191,01981	0,42	28,08
19B	Ácido quínico	191,05611	C ₇ H ₁₂ O ₆	191,05615	0,2	34,17	191,05616	0,25	34,47	191,05617	0,30	34,46

Continuação da Tabela 2A.

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAM			MC-11min			MC-24h		
				Dados experimentais								
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
20B	Ácido α-D-galacturônico	193,03538	C ₆ H ₁₀ O ₇	193,03533	-0,22	100,00	193,03534	-0,19	100,00	193,03533	-0,21	100,00
21B	Ácido glucônico	195,05103	C ₆ H ₁₂ O ₇	195,05095	-0,38	23,47	195,05096	-0,36	21,67	195,05095	-0,37	20,04
22B	Ácido siríngico	197,04555	C ₉ H ₁₀ O ₅	197,04549	-0,27	20,06	197,04550	-0,26	16,76	197,04549	-0,28	18,58
23B	Ácido 2-metilcitríco	205,03538	C ₇ H ₁₀ O ₇	205,03528	-0,49	2,47	205,03528	-0,48	2,48	205,03527	-0,51	2,39
24B	Ácido 4-O-metil-α-D-glucurônico	207,05103	C ₇ H ₁₂ O ₇	207,05093	-0,47	2,96	207,05093	-0,45	3,04	207,05094	-0,40	3,01
25B	Ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico	209,00916	C ₉ H ₆ O ₆	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26B	4-hidroxixantona	211,04007	C ₁₃ H ₈ O ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27B	1-hidroxiantraquinona	223,04007	C ₁₄ H ₈ O ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28B	1,8-dihidroxiantraquinona	239,03498	C ₁₄ H ₈ O ₄	239,12888	-0,02	4,49	239,12888	-0,02	3,15	239,12886	-0,08	5,76
29B	Purpurina	255,02990	C ₁₄ H ₈ O ₅	293,17589	0,18	45,62	293,17590	0,22	58,23	293,17587	0,13	53,23
30B	β-glucogalina	331,06707	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331,06705	-0,05	3,72	331,06706	-0,03	3,40	331,06704	-0,10	3,97
31B	3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavanol	335,04086	C ₁₅ H ₁₂ O ₉	335,04088	0,09	27,01	335,04089	0,11	19,42	335,04090	0,14	13,88
32B	Ácido 1,3,4-trihidroxi-5-(3,4,5-trihidroxibenzoil)oxiciclohexano-1-carboxílico	343,06707	C ₁₄ H ₁₆ O ₁₀	343,06696	-0,31	3,65	343,06697	-0,28	3,35	343,06695	-0,36	3,22
33B	Metil 6-O-galoil-b-D-glucopiranosídeo	345,08272	C ₁₄ H ₁₈ O ₁₀	191,01981	-	-	-	-	-	-	-	-
34B	ácido (2S,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-trihidroxi-3-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2-il]oxioxano-2-carboxílico	353,10893	C ₁₃ H ₂₂ O ₁₁	353,10892	-0,05	0,75	353,10891	-0,06	0,97	353,10895	0,05	0,91

Continuação da Tabela 2A.

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAM			MC-11min			MC-24h		
				Dados experimentais								
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
35B	7-O-galloil-sedoheptulose	361,07763	C ₁₃ H ₂₂ O ₁₁	361,07765	0,05	1,36	361,07766	0,08	1,52	361,07769	0,14	0,89
36B	Ácido digalacturônico	369,06746	C ₁₄ H ₁₈ O ₁₁	369,06735	-0,32	9,13	369,06736	-0,28	8,68	369,06737	-0,26	7,22
37B	Mangiferina	421,07763	C ₁₂ H ₁₈ O ₁₃	421,07771	0,18	5,13	421,07774	0,25	4,60	421,07770	0,14	5,04
38B	5-[(E)-1,3-difenilalil]-4-hidroxi-2-fenetil-2-propil-3H-piran-6-ona	451,22787	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39B	1,6-bis-O-galloil-β-D-glicose	483,07803	C ₃₁ H ₃₂ O ₃	483,07805	0,04	1,45	483,07803	0,01	1,39	483,07803	0,00	1,37

Tabela 3A: Dados dos compostos fenólicos propostos por HRMS presentes nos extratos de cascas de manga obtidos por extração assistida por ultrassom e maceração (5 minutos, 1 hora e 24 horas).

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAU			MC-5min			MC-1h			MC-24h		
				Dados experimentais											
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
1C	Ácido succínico	117,01933	C ₄ H ₆ O ₄	117,01941	0,66	6,74	117,01940	0,61	4,42	117,01941	0,65	3,21	117,01940	0,59	3,31
2C	Ácido glutacônico	129,01933	C ₅ H ₆ O ₄	-	-	-	-	-	-	129,01937	0,29	2,64	129,01938	0,40	2,84
3C	Ácido salicílico	137,02442	C ₇ H ₆ O ₃	-	-	-	-	-	-	137,02439	-0,19	0,49	137,02438	-0,27	0,69
4C	Ácido D-arabinônico	165,04046	C ₅ H ₁₀ O ₆	165,04040	-0,39	8,27	165,04041	-0,31	7,07	165,04040	-0,35	7,08	165,04040	-0,34	7,32
5C	Ácido gálico	169,01425	C ₇ H ₆ O ₅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	169,01423	-0,09	1,31
6C	Ácido decanóico	171,13905	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-	-	-	-	-	-	171,13907	0,09	0,59	171,13906	0,06	0,70
7C	Ácido trans-acônico	173,00916	C ₆ H ₆ O ₆	-	-	-	-	-	-	173,00911	-0,31	3,18	173,00910	-0,36	2,96
8C	Ácido chiquímico	173,04555	C ₇ H ₁₀ O ₅	173,04551	-0,22	26,05	173,04551	-0,21	25,13	173,04551	-0,18	23,41	173,04550	-0,30	24,64
9C	D-fructopirranose	179,05611	C ₆ H ₁₂ O ₆	179,05612	0,05	42,79	179,05613	0,10	44,79	179,05612	0,07	34,67	179,05613	0,09	34,27
10C	Galato de metila	183,02990	C ₈ H ₈ O ₅	183,02981	-0,50	5,52	-	-	-	183,02980	-0,52	3,69	183,02983	-0,37	4,57
11C	Ácido cítrico	191,01973	C ₆ H ₈ O ₇	191,01980	0,41	40,87	191,01980	0,37	31,65	191,01982	0,48	31,82	191,01979	0,32	35,58
12C	Ácido quínico	191,05611	C ₇ H ₁₂ O ₆	191,05616	0,25	52,15	191,05616	0,24	47,93	191,05616	0,27	46,48	191,05614	0,17	45,66
13C	Ácido α-d-galacturônico	193,03538	C ₆ H ₁₀ O ₇	193,03529	-0,46	25,79	193,03529	-0,45	21,94	193,03532	-	-	193,03528	-0,47	22,89
14C	Ácido glucônico	195,05098	C ₆ H ₁₂ O ₇	195,05100	-0,14	100,00	195,05100	-0,13	80,65	195,05101	-0,09	85,34	195,05098	-0,23	94,16
15C	Ácido siríngico	197,04546	C ₉ H ₁₀ O ₅	-	-	-	-	-	-	197,04544	-0,55	1,75	197,04546	-0,46	4,97
16C	Ácido 2-metilcítrico	205,03527	C ₇ H ₁₀ O ₇	-	-	-	-	-	-	205,03526	-0,54	3,03	205,03527	-0,53	3,07
17C	Ácido 4-O-Metil-α-D-glucurônico	207,05095	C ₇ H ₁₂ O ₇	207,05094	-0,41	5,50	207,05096	-0,34	5,05	207,05094	-0,44	4,82	207,05095	-0,35	4,76

Continuação da Tabela 3A.

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAU			MC-5min			MC-1h			MC-24h		
				Dados experimentais											
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
18C	ácido 2,4,5-trihidroxi-3-metoxihexanodióico	223,04590	C ₇ H ₁₂ O ₈	-	-	-	-	-	-	223,04590	-0,20	2,02	223,04590	-0,19	2,62
19C	1,8-dihidroxiantraquinona	239,12883	C ₁₃ H ₂₀ O ₄	239,12885	-0,14	8,58	239,12885	-0,15	9,69	239,12888	-0,01	4,56	239,12883	-0,21	3,75
20C	Purpurina	293,17584	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	293,17587	0,12	92,67	293,17585	0,06	100,00	293,17591	0,26	100,00	293,17584	0,04	100,00
21C	β-glucogalina	331,06704	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331,06702	-0,14	5,56	331,06704	-0,10	5,06	331,06705	-0,05	4,50	331,06704	-0,10	4,62
22C	3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavanol	335,04090	C ₁₅ H ₁₂ O ₉	335,04087	0,03	5,82	-	-	-	335,04089	0,11	5,95	335,04090	0,12	6,36
23C	Ácido 1,3,4-trihidroxi-5-(3,4,5-trihidroxibenzoil)oxici clohexano-1-carboxílico	343,06693	C ₁₄ H ₁₆ O ₁₀	-	-	-	-	-	-	343,06703	-0,12	0,79	343,06693	-0,41	0,80
24C	(2S,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-trihidroxi-3-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2-ácido -il]oxioxano-2-carboxílico	353,10896	C ₁₃ H ₂₂ O ₁₁	353,10895	0,05	36,32	353,10898	0,14	34,46	353,10893	-0,02	34,24	353,10896	0,07	30,82
25C	Ácido digalacturônico	369,06741	C ₁₂ H ₁₈ O ₁₃	-	-	-	-	-	-	369,06735	-0,30	0,83	369,06741	-0,13	1,22
26C	Mangiferina	421,07763	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	421,07765	0,03	14,56	421,07765	0,04	12,74	421,07775	0,28	14,52	421,07763	-0,02	12,83

Tabela 4A: Dados dos compostos fenólicos propostos por HRMS presentes nos extratos de cascas de manga obtidos por extração assistida por micro-ondas e maceração (11 minutos e 24 horas).

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAM			MC-11min			MC-24h		
				Dados experimentais								
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
1C	Ácido succínico	117,01933	C ₄ H ₆ O ₄	117,01941	0,67	4,77	117,01940	0,59	2,16	117,01940	0,62	2,99
2C	Ácido glutacônico	129,01933	C ₅ H ₆ O ₄	129,01939	0,46	6,25	129,01940	0,52	6,26	129,01939	0,44	4,42
3C	Ácido salicílico	137,02442	C ₇ H ₆ O ₃	-	-	-	-	-	-	137,02439	-0,18	0,51
4C	Ácido D-arabinônico	165,04046	C ₅ H ₁₀ O ₆	165,04038	-0,49	3,35	165,04039	-0,43	3,24	165,04039	-0,41	3,67
5C	Ácido gálico	169,01425	C ₇ H ₆ O ₅	169,01425	-0,01	2,29	169,01424	-0,02	1,46	169,01426	0,08	1,05
6C	Ácido decanóico	171,13905	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	171,13907	0,07	1,46	171,13907	0,07	1,34	171,13908	0,15	0,60
7C	Ácido trans-acônico	173,00916	C ₆ H ₆ O ₆	173,00909	-0,44	1,34	173,00909	-0,40	1,33	173,00910	-0,35	1,28
8C	Ácido chiquímico	173,04555	C ₇ H ₁₀ O ₅	173,04549	-0,35	17,95	173,04549	-0,33	18,56	173,04551	-0,20	15,72
9C	D-fructopiranoose	179,05611	C ₆ H ₁₂ O ₆	179,05613	0,11	29,79	179,05613	0,10	29,87	179,05612	0,07	22,09
10C	Galato de metila	183,02990	C ₈ H ₆ O ₅	183,02982	-0,43	5,27	183,02984	-0,34	13,01	183,02981	-0,47	5,13
11C	Ácido cítrico	191,01973	C ₆ H ₈ O ₇	191,01979	0,31	20,38	191,01979	0,32	21,49	191,01981	0,46	20,04
12C	Ácido quínico	191,05611	C ₇ H ₁₂ O ₆	191,05614	0,15	28,94	191,05614	0,15	28,71	191,05617	0,29	28,48
13C	Ácido α-d-galacturônico	193,03538	C ₆ H ₁₀ O ₇	193,03530	-0,41	18,56	193,03530	-0,42	19,77	193,03533	-0,25	18,53
14C	Ácido glucônico	195,05103	C ₆ H ₁₂ O ₇	195,05098	-0,21	100,00	195,05099	-0,20	100,00	195,05100	-0,12	100,00
15C	Ácido siríngico	197,04555	C ₉ H ₁₀ O ₅	197,04547	-0,37	8,26	197,04546	-0,43	3,65	197,04542	-0,64	0,47
16C	Ácido 2-metilcítrico	205,03538	C ₇ H ₁₀ O ₇	205,03527	-0,53	2,72	205,03526	-0,55	2,92	205,03528	-0,49	2,95
17C	Ácido 4-O-Metil-α-D-glucurônico	207,05103	C ₇ H ₁₂ O ₇	207,05095	-0,39	2,82	207,05095	-0,37	2,82	207,05092	-0,49	3,04

Continuação da Tabela 4A.

Nº	Compostos	M. T	F. M	EAM			MC-11min			MC-24h		
				Dados experimentais								
				m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.	m/z	Erro	A.R.
18C	ácido 2,4,5-trihidroxi-3-metoxihexanodióico	223,04594	C ₇ H ₁₂ O ₈	223,04589	-0,21	1,90	223,04588	-0,25	1,84			
19C	1,8-dihidroxiانтраquinona	239,12888	C ₁₃ H ₂₀ O ₄	239,12885	-0,15	7,28	239,12885	-0,14	6,52	239,12888	-0,03	4,89
20C	Purpurina	293,17583	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	293,17585	0,07	80,51	293,17585	0,07	98,06	293,17587	0,13	42,58
21C	β-glucogalina	331,06707	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331,06705	-0,06	4,41	331,06705	-0,07	4,09	331,06708	0,03	3,40
22C	3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavonol	335,04086	C ₁₅ H ₁₂ O ₉	335,04088	0,08	3,68	335,04092	0,20	8,59	335,04086	0,00	3,76
23C	Ácido 1,3,4-trihidroxi-5-(3,4,5-trihidroxibenzoil)oxíciclohexano-1-carboxílico	353,10893	C ₁₃ H ₂₂ O ₁₁	353,10894	0,00	16,96	353,10897	0,10	17,55	353,10893	-0,01	18,18
24C	(2S,3S,4R,5R,6R)-4,5,6-trihidroxi-3-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-trihidroxi-4,6-dimetiloxan-2 ácido -il]oxioxano-2-carboxílico	369,06741	C ₁₂ H ₁₈ O ₁₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25C	Ácido digalacturônico	369,06746	C ₁₂ H ₁₈ O ₁₃	369,06738	-0,23	1,24	369,06738	-0,22	1,49	369,06735	-0,31	1,22
26C	Mangiferina	421,07763	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	421,07764	0,01	4,85	421,07766	0,07	5,30	421,07768	0,11	4,30