

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

**JAMILY DEL PORTO LOBO**

**EXTRAÇÃO DE CORANTES ANTIOXIDANTES DA CASCA DO  
PINHÃO**

***(Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze)***

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PATO BRANCO - PR**

**2022**

JAMILY DEL PORTO LOBO

**EXTRAÇÃO DE CORANTES ANTIOXIDANTES DA CASCA DO PINHÃO**  
**(*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze)**

**EXTRACTION OF ANTIOXIDANT COLORS FROM PINE NUTS BARK**  
**(*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze)**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus* Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

PATO BRANCO - PR

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Pato Branco  
Departamento de Química  
Curso de Bacharelado em Química



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

EXTRAÇÃO DE CORANTES ANTIOXIDANTES DA CASCA DO PINHÃO (*ARAUCARIA  
ANGUSTIFOLIA* (BERTOL.) KUNTZE)  
por

Jamily Del Porto Lobo

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 05 de dezembro de 2022 às 10 horas e 30 minutos como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **Aprovado**.

---

Tatiane Luiza Cadorin Oldoni  
Prof<sup>a</sup>. Orientadora

---

Mário Antônio Alves da Cunha  
Membro titular

---

Vanderlei Aparecido de Lima  
Membro titular

Nota: O Documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no SEI processo 23064.058799/2022-06 documento 3140345.

Dedico este trabalho a todos que me apoiaram  
durante a etapa da graduação.

Agradeço primeiramente a minha mãe, Maristela, e meu tio, Ronaldo, por todo suporte durante a etapa universitária e por sempre colocarem a educação de qualidade como prioridade. Aos meus cachorros que me deram ânimo e força para continuar o processo.

Aos meus amigos que fiz durante a graduação, Daiane, Gabrieli, Nicoli e Wesley, que me ajudaram a concluir este trabalho, tanto na parte de laboratório, quanto nas questões emocionais.

Aos professores lotados no Departamento de Química, da UTFPR, Pato Branco, por todo conhecimento compartilhado durante o curso. Em especial, à professora Dr<sup>a</sup> Tatiane Luiza Cadorin Oldoni pela paciência, ensinamentos e orientação neste trabalho; à professora Dr<sup>a</sup> Marina Leite Mitterer Daltoe pelo fornecimento da matéria-prima; e ao professor Dr Vanderlei Aparecido de Lima, pela ajuda nas análises estatísticas.

Às estagiárias da Central de Análises que colaboraram com a organização dos equipamentos e reagentes para realização dos testes práticos.

Agradeço a todos que colaboraram de alguma maneira para a minha formação.

“A persistência é o caminho do êxito.”

**Charles Chaplin**

LOBO, Jamily. Extração de corantes antioxidantes da casca do pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze), 2022. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2022.

A *Araucaria angustifolia* é uma espécie encontrada na América do Sul e produz sementes chamadas de pinhão. De acordo com alguns trabalhos previamente realizados, existe a indicação de compostos fenólicos e atividade antioxidante na casca do pinhão. As cascas do pinhão são descartadas após o consumo e, visando propor uma utilização mais nobre deste material, o objetivo deste estudo foi otimizar o processo de extração de compostos fenólicos com atividade antioxidante presentes na casca do pinhão. A partir do delineamento experimental, em que foi variado a concentração de etanol e o tempo de extração, foi obtida a melhor condição para extrair os compostos, sendo 50% de etanol (v v<sup>-1</sup>) e 10 minutos no ultrassom para teor fenólicos totais, ABTS e FRAP, enquanto para DPPH, a condição ideal foi 20% de etanol (v v<sup>-1</sup>) e 5 ou 10 minutos de extração. O teor de compostos fenólicos para o extrato variou de 75,30 a 124,17 mg EAG g<sup>-1</sup>. A atividade antioxidantes obtida variou de 180,15 a 196,52 µmol de Trolox g<sup>-1</sup> para o método de sequestro do radical DPPH, 7127,19 a 17387,22 mmol L<sup>-1</sup> de Trolox g<sup>-1</sup> para o método de sequestro do radical ABTS e de 10787,44 a 14109,76 mmol L<sup>-1</sup> de Fe<sup>2+</sup> g<sup>-1</sup> para a metodologia da redução do ferro (FRAP). Os resultados mostraram que a casca do pinhão apresentou elevados teores de compostos fenólicos e alta atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** casca do pinhão, compostos fenólicos, atividade antioxidante, DPPH, ABTS e FRAP.

LOBO, Jamily. Extration of antioxidants dyes from pine seeds (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze), 2022. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2022.

*Araucaria angustifolia* is a species found in South America and produces pine seeds. According to some existing research, there is the presence of phenolic compounds and antioxidant activity in the pine shell, material that is discarded after consumption. In an attempt to avoid wasting this material, this research aimed to optimize the extraction process of phenolic compounds present in the pine shells. From the experimental design, in which the ethanol concentration and extraction timewere varied, the best condition to extract the compounds was obtained, being 50% ethanol ( $v v^{-1}$ ) and 10 minutes in ultrasound for total phenolic content , ABTS and FRAP, while for DPPH, the ideal condition was 20% ethanol ( $v v^{-1}$ ) and 5 or 10 minutes of extraction. The content of phenolic compounds in the extract was 75,30 - 124,17 mg EAG  $g^{-1}$ . The antioxidant activity had the following values 180,15 - 196,52  $\mu\text{mol}$  of Trolox  $g^{-1}$  for the kidnapping method of DPPH radical, 7127,19 - 17387,22  $\text{mmol L}^{-1}$  of Trolox  $g^{-1}$  for the kidnapping method of ABTS radical and 10787,44 - 14109,76  $\text{mmol L}^{-1}$  of  $\text{Fe}^{2+}$   $g^{-1}$  the methodology for the reduction of iron (FRAP). The results show that for some plants, the pine seeds has a high content of phenolic compounds and high antioxidant activity.

**Keywords:** pine shells, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH, ABTS e FRAP.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Araucária.....	18
Figura 2 - Pinha e pinhões .....	18
Figura 3 - Estrutura básica do flavonóide .....	20
Figura 4 - Estrutura química do ácido benzóico (A), ácido cinâmico (B) e cumarina (C).....	21
Figura 5 - Diferença na coloração dos extratos .....	27
Figura 6 - Correlação entre os testes de conteúdo de fenólicos totais (TPC), FRAP, ABTS, DPPH .....	29
Figura 7 - Análises de componentes principais .....	36
Figura 8 - Contribuição dos testes na primeira componente .....	37
Figura 9 - Contribuição dos testes na segunda componente .....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fatores e delineamento experimental .....	24
Tabela 2 - Concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante .....	28
Tabela 3 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste de conteúdo de fenólicos totais .....	30
Tabela 4 - Estimativas de parâmetros para fenólicos totais .....	31
Tabela 5 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste DPPH .....	32
Tabela 6 - Estimativas de parâmetros para DPPH .....	32
Tabela 7 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste ABTS .....	33
Tabela 8 - Estimativas de parâmetros para ABTS .....	34
Tabela 9 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste FRAP .....	34
Tabela 10 - Estimativas de parâmetros para FRAP .....	35

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Geral</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Específicos</b> .....	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Biodiversidade brasileira</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b><i>Araucaria angustifolia</i> e pinhão</b> .....	<b>17</b>
<b>3.3</b>	<b>Antioxidantes</b> .....	<b>19</b>
3.3.1	Radicais Livres e Antioxidantes .....	19
3.3.2	Compostos Fenólicos .....	19
3.3.2.1	<u>Flavonoides</u> .....	<u>20</u>
3.3.2.2	<u>Não-flavonoides</u> .....	<u>20</u>
<b>3.4</b>	<b>Corantes naturais</b> .....	<b>21</b>
<b>3.5</b>	<b>Otimização de processos de extração</b> .....	<b>22</b>
3.5.1	Extração .....	22
3.5.2	Otimização do processo .....	22
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
<b>4.1</b>	<b>Material</b> .....	<b>24</b>
<b>4.2</b>	<b>Métodos</b> .....	<b>24</b>
4.2.1	Extração .....	24
4.2.2	Análise do conteúdo fenólicos totais .....	25
4.2.3	Análise de atividade antioxidante usando o método de eliminação de radicais livres DPPH .....	25
4.2.4	Análise de atividade antioxidante usando o método de sequestro de radical ABTS .....	26
4.2.5	Análise de atividade antioxidante usando o método de redução do ferro (FRAP).....	26
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>5.1</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	<b>27</b>
<b>5.2</b>	<b>Concentrações obtidas nos ensaios</b> .....	<b>28</b>
<b>5.3</b>	<b>Teor de fenólicos totais</b> .....	<b>30</b>
<b>5.4</b>	<b>Método de eliminação de radicais livres DPPH</b> .....	<b>32</b>

<b>5.5</b>	<b>Método de sequestro de radical ABTS .....</b>	<b>33</b>
<b>5.6</b>	<b>Método de poder antioxidante redutor férrico (FRAP).....</b>	<b>34</b>
<b>5.7</b>	<b>Análise de componentes principais (ACP).....</b>	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>38</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A flora brasileira merece destaque pela sua biodiversidade. Composta por seus sete biomas com características distintas, é estudada cada vez mais visando comercializar produtos ou serviços ambientais, além de melhorar a qualidade de vida dos seres humanos (PIMENTEL *et al.*, 2015; MAGNUSSON *et al.*, 2016). Em extratos obtidos de plantas, destacam-se os metabólitos secundários, principalmente os compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos têm capacidade de formar radicais intermediários estáveis, eliminando ou inibindo os radicais livres do organismo (SILVA *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2007). Sendo assim, os antioxidantes naturais impedem a oxidação do alimento, mantendo suas propriedades, como sabor e odor, por mais tempo (GÜLÇİN, 2012).

O excesso de radicais livres causa doenças sérias para o ser humano, como cardiopatia, aterosclerose e problemas pulmonares. Além disso, provocam danos no DNA, desempenhando papel importante nos processos mutagênicos e carcinogênicos (BIANCHI *et al.*, 1999). Dessa maneira, observa-se a necessidade de combater esses radicais livres, podendo ser através de antioxidantes naturais (FONSECA *et al.*, 2021). A *Araucaria angustifolia* é uma espécie que se desenvolve na América do Sul, e é composta por pinhas que envolvem os pinhões, sendo um alimento com alto valor nutricional e alto teor de compostos fenólicos (KUBASKI *et al.*, 2015; BOGONI *et al.*, 2020; BARROS *et al.*, 2020). Além disso, é uma conífera de grande importância econômica, principalmente para o estado do Paraná, região Sul do país, já que as sementes são comercializadas e geram renda para os produtores, coletores e vendedores (RIBEIRO *et al.*, 2015).

O sistema de coleta do pinhão é feito manualmente, seja por meio de vara de bambu ou as sementes podem ser recolhidas do chão após a maturação, não sendo o mais indicado. Em seguida, é necessário realizar a estocagem em locais refrigerados, para evitar absorção de água ou problemas com fungos (CRUZ *et al.*, 2019).

Considerando que o pinhão é cozido ou assado e descascado para ser consumido, observa-se que a casca é descartada no ambiente e não aproveitada pela indústria. Sua composição química corresponde a 32,43% de lignina, 35,16%

de celulose e 14,83% de hemicelulose, apresentando significativa concentração de polifenóis. Apesar de ser um produto pouco estudado, estudos realizados por Santos *et al.* (2011) identificaram os seguintes compostos fenólicos no revestimento do pinhão: catequina, derivados de epicatequina, ácido protocatecuico, derivados de ácido ferúlico, quercetina-3-o-glicosídeo e eriodictiol-O-hexosídeo. Sendo assim, esses compostos poderiam ser utilizados como corante alimentício (FONSECA *et al.*, 2021).

Os corantes naturais são pigmentos extraídos de vegetal, animal ou mineral. A indústria alimentícia utiliza esse pigmento para tornar o alimento mais atrativo visualmente, e também, para deixá-lo mais nutritivo, considerando que alguns corantes advindos de plantas possuem boa atividade antioxidante (VELOSO, 2012).

Tendo em vista a importância de antioxidantes naturais para o organismo humano, o objetivo do presente trabalho é a otimização de processos de extração de corantes com potencial antioxidante da casca do pinhão, utilizando o Modelo Linear Generalizado (MLG) e a determinação da atividade antioxidante.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

O objetivo do presente trabalho é a otimização da extração de corantes com potencial antioxidante da casca do pinhão.

### **2.2 Específicos**

- Realizar a otimização da extração de corantes antioxidantes da casca do pinhão por meio de diferentes composições de etanol e tempo de extração.
- Determinar o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante dos extratos etanólicos da casca do pinhão, obtidos pelos ensaios, utilizando-se os métodos de sequestro dos radicais DPPH, método por ABTS e pelo método de redução do ferro (FRAP).

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Biodiversidade brasileira

O Brasil é um país privilegiado em relação à diversidade biológica. Seu território é composto por sete biomas (Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal e Zona Costeira e Marinha), podendo ser diferenciados pela ocorrência exclusiva de determinadas espécies em cada área (PIMENTEL *et al.*, 2015).

A biodiversidade brasileira é pesquisada desde a colonização do país por imigrantes europeus. Mais recente este conceito vem sendo estudado com o objetivo de comercializar produtos ou serviços advindos do meio ambiente. Entretanto, a vegetação nativa do país está em uma situação preocupante, onde áreas naturais já foram perdidas devido a exploração humana (MAGNUSSON *et al.*, 2016; METZGER *et al.*, 2019).

Com o objetivo de preservar o ecossistema, foram criadas as áreas protegidas (UCs), que são estratégias para a conservação da biodiversidade. Atualmente, 18,6% das terras do Brasil são protegidas, porém a distribuição é desigual entre os biomas, sendo os mais desfavorecidos a Mata Atlântica e o Cerrado (MARQUES *et al.*, 2022).

#### 3.2 *Araucaria angustifolia* e pinhão

A *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze, conhecida popularmente como pinheiro do Paraná ou apenas araucária (Figura 1), é uma espécie muito encontrada na América do Sul, mais precisamente no Brasil, Argentina, Paraguai e Chile (KUBASKI *et al.*, 2015).

Pertence à família *Araucariaceae* e é o símbolo da floresta ombrófila mista (associação entre coníferas e folhosas), sendo um elemento importante da região subtropical da Mata Atlântica. Entretanto, com a superexploração da madeira no século XX, grande parte de sua antiga área foi destruída, tendo atualmente 15% do domínio original (BOGONI *et al.*, 2020).

É uma espécie dioica, isto é, espécimes masculinas e femininas têm seus próprios estróbilos, responsáveis pela formação dos gametas (BRANCO *et al.*,



2015). O estróbilo feminino (pinha) é composto por sementes (pinhão) (Figura 2), que correspondem à parte comestível, por conter alto valor nutricional (BOGONI *et al.*, 2020). Possuem alto teor de amido, fibras alimentares, minerais e compostos fenólicos, além de bom nível de aminoácido, tendo a capacidade de combater azia e anemia (BARROS *et al.*, 2020).

**Figura 1 - Araucária**



**Fonte: Unipampa (2018)**

**Figura 2 - Pinha e pinhões**



**Fonte: Embrapa (2013)**

A maturação da semente se dá em baixas temperaturas. Por esse motivo é encontrado, no Brasil, entre março e agosto (outono-inverno no Hemisfério Sul) (BOGONI *et al.*, 2020). Durante essa fase do ano, este alimento é apreciado pela fauna silvestre e pelo ser humano, mais usual na forma cozida ou assada (SANTOS *et al.*, 2002).

A colheita geralmente é feita a partir dos pinhões que caem no solo ou com a ajuda de uma vara de bambu. A primeira maneira deve ser evitada para garantir que o alimento não tenha sofrido danos por insetos ou roedores (BARROS *et al.*, 2020). Após essa etapa, por conter alta atividade de água, a semente deve ser refrigerada durante a estocagem para que não seja atacada por fungos (CRUZ *et al.*, 2019).

Além das vantagens em relação ao consumo, o pinhão também representa grande importância econômica para o estado do Paraná, especialmente em regiões de maior pobreza. A comercialização da semente gera fonte de renda para coletores, produtores rurais, atacadistas e varejistas (RIBEIRO *et al.*, 2015).

Entretanto, a casca do pinhão é descartada no ambiente como resíduo. Este revestimento representa aproximadamente 22% da semente. Os constituintes químicos da parede celular correspondem a 32,43% de lignina, 35,16% de celulose

e 14,83% de hemicelulose, sendo um material rico em polifenóis e pouco estudado (SAMPAIO *et al.*, 2014).

### 3.3 Antioxidantes

#### 3.3.1 Radicais Livres e Antioxidantes

Os radicais livres desempenham funções importantes no organismo, podendo citar a produção de energia, regulação do crescimento celular e síntese de substâncias biológicas. Quimicamente, são espécies com elétrons desemparelhados e, conseqüentemente, altamente instáveis. Sendo assim, seu excesso provoca alteração nas estruturas celulares, o que causa patologias como câncer e doenças neurológicas. Para tentar combater este problema, o organismo produz antioxidantes, isto é, substâncias capazes de sequestrar os radicais livres (ALVES *et al.*, 2010; GÜLÇİN, 2012; BARROS *et al.*, 2020).

Os antioxidantes também podem ser obtidos por meio da alimentação (ALVES *et al.*, 2010). Atualmente, têm sido realizados diversos estudos para encontrar antioxidantes naturais, já que o consumo de sintéticos vem trazendo alguns problemas, podendo causar câncer se consumidos em excesso (SOUZA *et al.*, 2007). Pesquisas mostram que a casca do pinhão é um exemplo de produto rico em compostos fenólicos naturais (FONSECA *et al.*, 2021). De acordo com estudos realizados por Santos (2016), foram identificados catequina, derivados de epicatequina, ácido protocatecuico, derivados de ácido ferúlico, quercetina-3-O-glicosídeo e eriodictiol-O-hexosídeo.

No contexto da alimentação, os antioxidantes retardam ou impedem a deterioração do sabor e a perda de qualidade nutricional, pois evita a oxidação. Podem agir de diferentes maneiras: os antioxidantes primários eliminam diretamente os radicais livres através da doação de hidrogênio para essas moléculas; enquanto os antioxidantes secundários eliminam o átomo de oxigênio, convertendo hidroperóxidos em espécies não radicais (GÜLÇİN, 2012).

#### 3.3.2 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos especializados encontrados em vegetais, plantas e frutas. Podem proporcionar coloração ao alimento e/ou impedir a oxidação dos ingredientes do alimento, devido a formação de radicais intermediários estáveis, com ressonância no anel aromático (SILVA *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2007).

Esses compostos apresentam grupos benzênicos, tendo como substituintes hidroxilas (-OH). Além disso, são divididos em flavonoides, que correspondem aos polifenóis, e não-flavonoides, que correspondem aos fenóis simples ou ácidos (SILVA *et al.*, 2010).

### 3.3.2.1 Flavonóides

A estrutura básica de um flavonoide (Figura 3) depende da combinação do grupamento, podendo formar antocianinas, flavonas, flavonóis, auronas, caucanas, isoflavonas, flavononas, catequinas e dihidroflavonois. Possui ação antiinflamatória, antiviral, antibacteriana, antialérgica e vasodilatadora e é encontrada em alimentos na forma de O-glicosídeos, como uva, cacau, soja e chá (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

**Figura 3 - Estrutura básica do flavonoide**



**Fonte: Autoria própria (2022)**

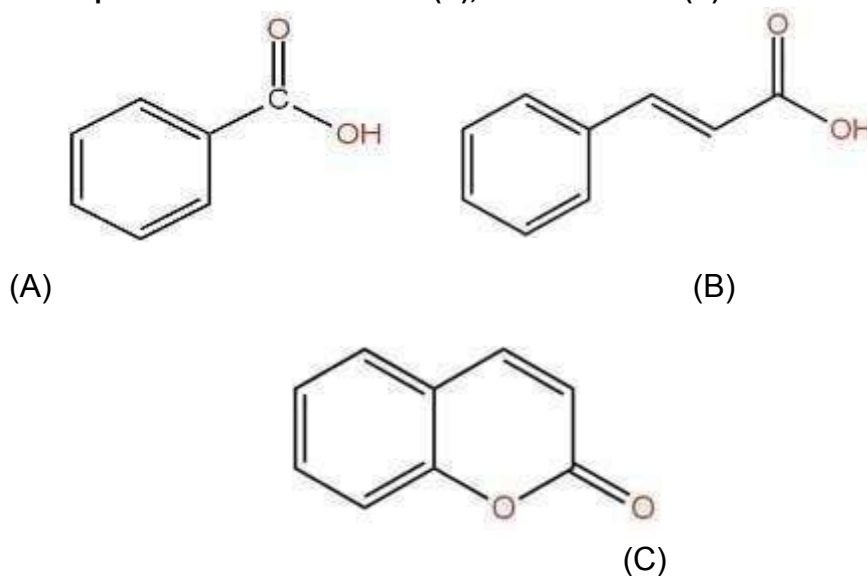
Os flavonoides, por meio da doação de átomos de hidrogênio, removem os íons superóxidos e radicais hidroxil, formando o radical flavonol (OLIVEIRA *et al.*, 2010; SAVI *et al.*, 2017).

### 3.3.2.2 Não-flavonoides

A atividade antioxidante dessa classe está relacionada com a posição da hidroxila (-OH) e com a proximidade da carboxila (-CO<sub>2</sub>H) (SILVA *et al.*, 2010). Podem se ligar entre si ou com outras moléculas, sendo o ácido caféico a combinação mais importante (SOARES *et al.*, 2002).

Os ácidos fenólicos são divididos em ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos e as cumarinas (ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico) (Figura 4) (SOARES *et al.*, 2002).

Figura 4 - Estrutura química do ácido benzóico (A), ácido cinâmico (B) e cumarina (C)



Fonte: Autoria própria (2022)

## 3.4 Corantes naturais

Corante é um pigmento que quando aplicado a um alimento, medicamento ou cosmético é capaz de conferir coloração. É obtido a partir de um processo de síntese ou extraído de um vegetal, animal ou mineral (SCHIOZER *et al.*, 2007). Pode ser adicionado no alimento para restituir a aparência do produto, conferindo ou reforçando as cores presentes, com o objetivo de tornar o alimento mais atrativo (VELOSO, 2012).

Os corantes naturais são divididos em cinco classes e cada uma delas representa um corante, sendo tetrapirrol (clorofila), tetraterpeno ( $\beta$ -caroteno, astaxantina e bixina), flavonoide (luteolina e cianidina), antraquinona (ácido carmínico) e betalaína (betanina) (VELOSO, 2012).

As antocianinas, do grupo flavonoide, são usadas na coloração de alguns produtos e estão presentes nas frutas vermelhas, vinhos e outros alimentos. Entretanto se restringe a produto ácido, devido à instabilidade a luz, pH, enzimas, temperatura e presença de oxigênio (SCHIOZER *et al.*, 2007).

As indústrias alimentícias têm preferência por extratos de urucum, cenoura, óleo de palma, açafrão e páprica. Isso decorre da grande produção desses alimentos dentro do Brasil (SCHIOZER *et al.*, 2007).

### **3.5 Otimização de processos de extração**

#### **3.5.1 Extração**

A extração de compostos antioxidantes advindos de vegetais pode ser realizada a partir de técnicas tradicionais, com solventes orgânicos, ou por meio de processos mais avançados, como utilizando microondas (GARCIA *et al.*, 2012).

Quando se trata de corantes naturais, os solventes orgânicos são usados e conseguem extrair uma porcentagem alta do antioxidante. Como a variação da concentração de solvente influencia no processo de extração, as proporções de cada pigmento podem ser diferentes (GARCIA *et al.*, 2012).

#### **3.5.2 Otimização do processo**

A extração de bioativos pode ser realizada por diferentes métodos, sendo possível variar condições que otimizem o processo. Essa variação das condições pode gerar resultados enganosos se os efeitos se relacionarem entre si (OLIVEIRA 2014).

O delineamento experimental é utilizado para planejar o experimento a partir da estatística. Por meio desse procedimento, são definidos os fatores do processo para que em seguida seja realizado o tratamento matemático para saber os efeitos

quando cada condição é variada. Dessa maneira, são obtidas muitas informações sobre a extração, reduzindo o número de experimentos (OLIVEIRA 2014).

Com base nas respostas sobre os fatores dependentes e independentes, a otimização visa encontrar as condições em que os parâmetros dependentes apresentem melhores resultados (PÉREZ, 2022).

O Modelo Linear Generalizado (MLG) é uma extensão dos modelos de regressão. Tem como objetivo aumentar o número de suposições admitidas e examinar não somente as relações lineares entre as variáveis explicativas e a resposta. A distribuição de probabilidade Gama, uma das principais distribuições da classe MLG, pode ser usada para modelar dados positivos e assimétricos. Essa regressão modela variáveis contínuas (PÉREZ, 2022).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

Os pinhões foram adquiridos no mês de julho de 2022, em mercado local, na cidade de Pato Branco, Paraná, Brasil. Para os processos de extração e identificação foram utilizados os seguintes reagentes: água, etanol 96%, Folin- Ciocalteu, carbonato de sódio, DPPH, trolox, ABTS, persulfato de potássio, tampão acetato, TPTZ, cloreto férrico, ácido acético e acetonitrila.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Extração

Os pinhões foram descascados crus e as cascas foram deixadas em estufa a 40°C, por 3 dias. Em seguida, foram moídas em moinho tipo willye TE-650.

Os extratos foram preparados a partir de 2 g da casca do pinhão e 25 mL das diferentes concentrações de etanol:água ( $v v^{-1}$ ), sendo submetidos ao ultrassom, à temperatura ambiente, para evitar a degradação dos antioxidantes presentes nas amostras. Após este processo, os extratos foram centrifugados, filtrados e armazenados sob refrigeração.

O delineamento experimental foi utilizado para avaliar a influência dos parâmetros: concentração de etanol (20 - 80%/ $X_1$ ) e tempo de extração (5 - 15 min./ $X_2$ ). No total, 15 corridas foram realizadas (Tabela 1), com repetição no pontocentral.

**Tabela 1 - Fatores e delineamento experimental**

<b>Corrida</b>	<b><math>X_1</math> (<math>v v^{-1}</math>)</b>	<b><math>X_2</math> (min.)</b>
<b>1</b>	20 (-1)	5 (-1)
<b>2</b>	20 (-1)	5 (-1)
<b>3</b>	20 (-1)	5 (-1)
<b>4</b>	80 (+1)	5 (-1)
<b>5</b>	80 (+1)	5 (-1)

<b>6</b>	80 (+1)	5 (-1)
<b>7</b>	20 (-1)	15 (+1)
<b>8</b>	20 (-1)	15 (+1)
<b>9</b>	20 (-1)	15 (+1)
<b>10</b>	80 (+1)	15 (+1)
<b>11</b>	80 (+1)	15 (+1)
<b>12</b>	80 (+1)	15 (+1)
<b>13</b>	50 (0)	10 (0)
<b>14</b>	50 (0)	10 (0)
<b>15</b>	50 (0)	10 (0)

Fonte: Autoria própria (2022)

#### 4.2.2 Análise do conteúdo fenólicos totais

O conteúdo fenólico total foi determinado pelo ensaio de Folin-Ciocalteu: volumes de 0,5 mL dos extratos hidroalcoólicos da casca da *Araucaria angustifolia* diluídos 1:100 v v<sup>-1</sup>, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu (100 mL L<sup>-1</sup>) e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio (40 g L<sup>-1</sup>) foram colocados em um tubo de ensaio. As misturas foram mantidas por 2 horas, sem luz, à temperatura ambiente e, em seguida, a absorbância foi determinada a 740 nm em um espectrofotômetro.

Para o branco, foi utilizada uma mistura contendo 0,5 mL de água destilada, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu e 2 mL de carbonato de sódio. Os resultados foram encontrados com base em uma curva de calibração usando ácido gálico como padrão, expressa em mg EAG g<sup>-1</sup> (SINGLETON *et al.*, 1998).

#### 4.2.3 Análise de atividade antioxidante usando o método de eliminação de radicais livres DPPH

Foram adicionados em um tubo de ensaio: 0,5 mL dos extratos da casca da *Araucaria angustifolia* diluídos 1:100 v v<sup>-1</sup>, 3 mL de etanol e 0,3 mL de solução de radical DPPH em etanol (0,5 mmol L<sup>-1</sup>). As misturas foram mantidas no escuro à



temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida, a absorvância da mistura foi medida em um espectrofotômetro a 517 nm.

Para o branco, foi utilizado etanol 80%.

Para a curva analítica, foi utilizado Trolox e o resultado expressa em  $\mu\text{mol}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$  (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

#### 4.2.4 Análise de atividade antioxidante usando o método de sequestro de radical ABTS

O radical ABTS foi obtido a partir da reação de 5 mL de ABTS ( $7 \text{ mmol L}^{-1}$ ) com 88  $\mu\text{L}$  de solução de persulfato de potássio ( $140 \text{ mmol L}^{-1}$ ), na ausência de luz por 16 horas. A solução radical ABTS foi diluída em etanol por absorvância de  $0,700 \pm 0,050$  à 734 nm. Foram adicionados em um tubo de ensaio, 30  $\mu\text{L}$  das amostras diluídas 1:100 v v<sup>-1</sup> e 3 mL de solução contendo o radical ABTS. A absorvância foi medida em espectrofotômetro, após 6 minutos da reação no escuro e à temperatura ambiente.

Para o branco, foi utilizado o etanol PA e a quantificação foi feita usando a curva padrão de Trolox, sendo expressa em  $\text{mmol L}^{-1}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$  (Re *et al.*, 1999).

#### 4.2.5 Análise de atividade antioxidante usando o método de redução do ferro (FRAP)

O reagente FRAP foi obtido a partir de uma mistura de 25 mL de tampão acetato ( $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ ), 2,5 mL de solução TPTZ [2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina; 10 mmol/L] e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico ( $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Em um tubo de ensaio foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  dos extratos da casca da *Araucaria angustifolia* diluídos 1:100 v v<sup>-1</sup> e 3 mL do reagente FRAP, mantendo a mistura em banho-maria, a 37°C, por 30 minutos.

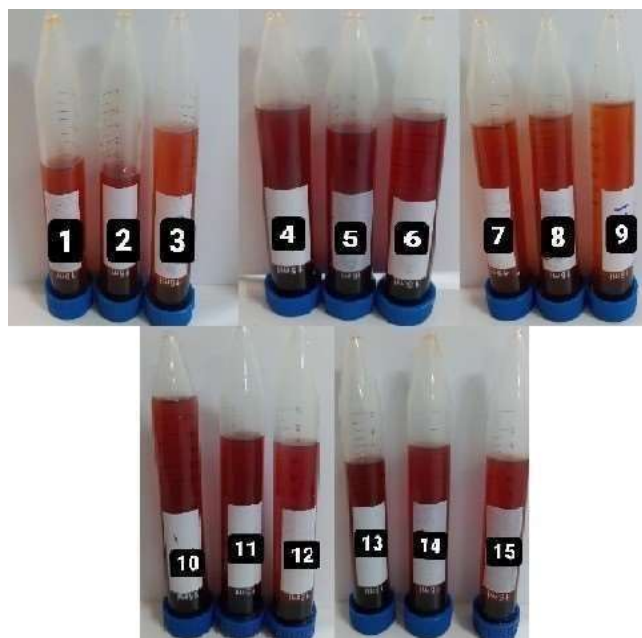
A absorvância foi medida em espectrofotômetro a 595 nm e o FRAP foi utilizado como branco. A quantificação foi expressa em  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{Fe}^{2+}$   $\text{g}^{-1}$  (BENZIE E STRAIN, 1996).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental teve como finalidade avaliar as condições de extração dos corantes com atividade antioxidante, variando o tempo de extração e a concentração de etanol. Foi possível observar uma diferença visual na coloração dos extratos (Figura 5), indicando que a composição química pode ter variado devido às condições de extração que as amostras foram submetidas.

**Figura 5 - Diferença na coloração dos extratos**



Fonte: Autoria própria (2022)

Os extratos que foram produzidos com o solvente etanol 50% e 80% v v<sup>-1</sup> apresentaram colorações mais avermelhadas, enquanto os extratos obtidos a partir da utilização do etanol 20% v v<sup>-1</sup> apresentaram-se mais alaranjados (menor intensidade de cor). Apenas pela avaliação visual, a variação do tempo de extração não alterou a coloração das amostras (os extratos 4 e 10, por exemplo, foram obtidos pela mesma concentração de etanol, porém com variação no tempo no ultrassom e mesmo assim a coloração se manteve).

## 5.2 Concentrações obtidas nos ensaios

A influência dos fatores foi avaliada a partir dos resultados obtidos por meios dos extratos para a determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS e método de redução do ferro (FRAP) (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante

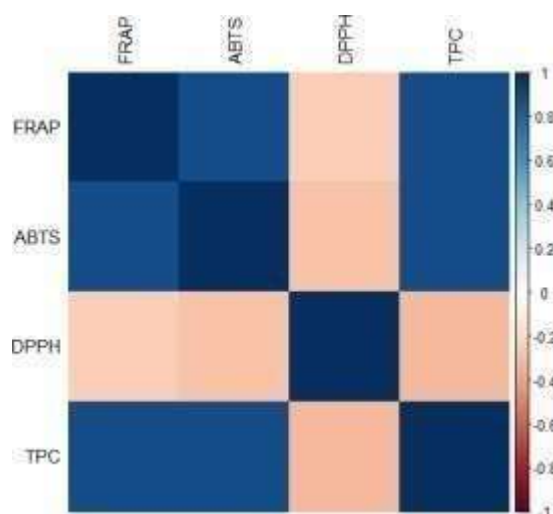
Corrida	Fenólicos totais (mg EAG g <sup>-1</sup> )	DPPH (μmol de Trolox g <sup>-1</sup> )	ABTS (mmol L <sup>-1</sup> de Trolox g <sup>-1</sup> )	FRAP (mmol L <sup>-1</sup> de Fe <sup>2+</sup> g <sup>-1</sup> )
1	90,05 ± 0,071	196,52 ± 0,14	9946,74 ± 0,21	12705,58 ± 0,14
2	92,80 ± 0,35	196,19 ± 0,35	16290,73 ± 0,42	12834,07 ± 0,42
3	91,67 ± 0,28	196,19 ± 0,071	10494,99 ± 0,42	12742,29 ± 0,85
4	120,67 ± 0,42	192,52 ± 0,42	15507,52 ± 0,28	12935,02 ± 0,35
5	117,05 ± 0,35	193,51 ± 0,35	15585,84 ± 0,35	13127,75 ± 0,28
6	120,67 ± 0,35	193,52 ± 0,071	15507,52 ± 0,42	12944,20 ± 0,14
7	78,92 ± 0,42	185,49 ± 0,35	7832,08 ± 0,42	10787,44 ± 0,35
8	75,55 ± 0,21	190,17 ± 0,21	8771,93 ± 0,28	10897,58 ± 0,21
9	75,30 ± 0,21	187,50 ± 0,071	7127,19 ± 0,35	10851,69 ± 0,28
10	104,30 ± 0,35	184,83 ± 0,21	15742,48 ± 0,21	12779,00 ± 0,71
11	105,05 ± 0,49	187,16 ± 0,14	15350,88 ± 0,071	13100,22 ± 0,21
12	107,80 ± 0,35	187,50 ± 0,35	15899,12 ± 0,35	13008,44 ± 0,071
13	123,67 ± 0,14	180,15 ± 0,21	17387,22 ± 0,28	14109,76 ± 0,49
14	117,17 ± 0,28	181,15 ± 0,21	16917,29 ± 0,14	13724,30 ± 0,35
15	124,17 ± 0,14	180,15 ± 0,21	17152,25 ± 0,071	14073,05 ± 0,071

Fonte: Autoria própria (2022)

Foi possível verificar que os ensaios que apresentaram maior atividade antioxidante para os métodos de sequestro de radical ABTS, de poder antioxidante redutor férrico (FRAP) e maior teor de compostos fenólicos foram os ensaios obtidos no ponto central 13, 14 e 15 e que utilizaram 50% de etanol v v<sup>-1</sup> e 10 minutos de extração; e ainda tiveram menor capacidade extratora quando o solvente foi 20% de

etanol v v<sup>-1</sup> (corridas 1, 2, 3, 7, 8 e 9). Para o método de eliminação de radicais DPPH, os maiores resultados foram obtidos para os ensaios em que se utilizou 20% de etanol v v<sup>-1</sup> e 5 minutos de extração (1, 2 e 3). A partir dessas observações, notou-se que os testes de FRAP, ABTS e teor de fenólicos totais (TPC) correlacionaram-se positivamente, já que as condições para melhores extrações de antioxidantes foram muito semelhantes. Em contrapartida, o teste DPPH foi inversamente correlacionado com os demais (Figura 6).

**Figura 6 - Correlação entre os testes de conteúdo de fenólicos totais (TPC), FRAP, ABTS, DPPH**



Fonte: Autoria própria (2022)

O resultado médio obtido para análise de fenólicos totais variou de 75,30 a 124,17 mg EAG g<sup>-1</sup>. De acordo com os estudos realizados por Santos *et al.* (2011), foram encontrados 77,78 mg EAG g<sup>-1</sup> em seu experimento. Entretanto, as condições de extração foram diferentes (concentração de etanol variando de 38,07 a 96,93% e temperatura de 21,48 a 63,52 °C), podendo ser o motivo da pequena variação nos valores encontrados.

Para a análise de radicais livres DPPH, o valor encontrado variou de 180,15 a 196,52 µmol de Trolox g<sup>-1</sup>. Comparando com as pesquisas de Santos *et al.* (2011), onde foi obtido, em média, 175,65 ± 2,94 µmol de Trolox g<sup>-1</sup> nota-se a semelhança nos resultados, apesar das concentrações distintas de etanol.

A variação encontrada na análise de sequestro de radical ABTS foi de 7127,19 a 17387,22 mmol L<sup>-1</sup> de Trolox g<sup>-1</sup>. Não foram encontrados estudos

realizados com a casca do pinhão utilizando esse método. Entretanto, Sganzerla *et al.* (2021) desenvolveu filmes biodegradáveis a base de amido de pinhão e pectina cítrica contendo farinha da casca de goiaba serrana e quantificou a atividade antioxidante dos filmes produzidos, encontrando no máximo  $33,53 \pm 2,43$  mg de Trolox equivalente  $\text{g}^{-1}$  de biofilme. O valor foi bem inferior ao analisado neste atual trabalho, possivelmente pelo extrato ter sido solubilizado em água e pela utilização da semente do pinhão. Pigozzi *et al.* (2019) comprovou em seu estudo sobre a atividade antioxidante em pinhão, sob diferentes formas de processamento, que a farinha de pinhão cozido apresentou a maior concentração de compostos fenólicos, com migração dos compostos da casca para a semente durante o cozimento, ou seja, a casca do pinhão mostrou-se com maior atividade antioxidante comparado a semente.

Os resultados das 15 corridas para o método de redução do ferro (FRAP) variaram de 10787,44 a 14109,76  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{Fe}^{2+}$   $\text{g}^{-1}$ . Não foram encontrados estudos que utilizaram exclusivamente a casca do pinhão, porém na análise de atividade antioxidante de Sganzerla *et al.* (2021), foi encontrado para o método FRAP  $741,83 \pm 0,97$  mg de trolox  $\text{g}^{-1}$  de biofilme, mostrando novamente que a casca do pinhão possui maior atividade antioxidante.

### 5.3 Teor de fenólicos totais

Em relação às variações dos parâmetros estabelecidos, foi possível afirmar que a concentração de etanol, o tempo de extração e as duas condições combinadas foram significativas para cada fator avaliado ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste de conteúdo de fenólicos totais**

	Teste de Wald	gl	<i>p</i>
(Intercepto)	2497415,47	1	0,000
Etanol	2105,89	1	0,000
Tempo	544,20	1	0,000
Etanol * Tempo	20,14	1	0,000

Fonte: Autoria própria (2022)

Sendo gl: graus de liberdade;  
 $p$ : significância.

Analisando a tabela 4, observou-se o efeito da concentração de etanol, tempo de extração e a combinação das duas condições. Além disso, é possível analisar a razão de chance (Exp (B)), definida como a razão entre a chance de algo acontecer sobre a chance de algo não acontecer. Pode ser calculada mantendo a condição menos eficiente como 1,00 e fazendo uma subtração com o parâmetro a ser comparada. Para encontrar a porcentagem, apenas multiplicar o resultado por 100%.

**Tabela 4 - Estimativas de parâmetros para fenólicos totais**

Parâmetro	B	Erro padrão	Teste de hipótese			Exp(B)
			Teste de Wald	gl	$p$	
(Intercepto)	4,34	0,0064	459933,21	1	0,000	76,59
Etanol 50%	0,45	0,0090	2757,98	1	0,000	1,61
Etanol 80%	0,32	0,0090	1268,93	1	0,000	1,38
Etanol 20%	0 <sup>a</sup>					1,00
10 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
5 minutos	0,18	0,0090	386,85	1	0,000	1,19
15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 50% * 10 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 80% * 5 minutos	-0,057	0,013	20,14	1	0,000	0,94
Etanol 80% * 15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 20% * 5 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
(Escala)	.000 <sup>b</sup>	6,34E-05				

Fonte: Autoria própria (2022)

Sendo “a” definido como zero porque este parâmetro é redundante;

“b”: estimativa de máxima verossimilhança;

B: coeficientes do modelo;

gl: graus de liberdade;

$p$ : significância;

Exp(B): razão de chance.

A partir dos resultados, é possível sugerir que a concentração de etanol de 80% (v v<sup>-1</sup>) foi mais eficiente e, por meio da razão de chance, avaliou que teve 60,80% a mais de capacidade de extrair os compostos fenólicos quando comparado a pior condição (concentração de etanol de 20% (v v<sup>-1</sup>)). Quando o tempo de extração foi avaliado, 5 minutos no ultrassom indica ser a melhor condição pois extraiu 19,50% a mais comparado às demais variações. Quando considerou-se a interação, a condição ideal passou a ser 50% (v v<sup>-1</sup>) de etanol, durante 10 minutos de extração, obtendo 5,60% de vantagem sob as demais combinações.

#### 5.4 Método de eliminação de radicais livres DPPH

A tabela 5 evidenciou que a concentração de etanol e o tempo foram significantes para os resultados, tendo  $p < 0,05$ , mas a combinação dos dois fatores não é significativa.

**Tabela 5 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste DPPH**

	Teste de Wald	gl	$p$
(Intercepto)	9677942,85	1	0,000
Etanol	10,31	1	0,001
Tempo	124,27	1	0,000

Fonte: Autoria própria (2022)

Para o etanol, a melhor condição foi 20% (v v<sup>-1</sup>) e a partir da razão de chance, foi observado que a capacidade extratora foi 8,50% a mais que a pior condição. Para o tempo, 5 e 10 minutos foram os mais eficientes (Tabela 6).

**Tabela 6 - Estimativas de parâmetros para DPPH**

Parâmetro	B	Erro padrão	Teste de hipótese			Exp(B)
			Teste de Wald	gl	$p$	
(Intercepto)	5,20	0,0036	2120099,99	1	0,000	180,48
Etanol 20%	0,082	0,0047	298,85	1	0,000	1,09

Parâmetro	B	Erro padrão	Teste de hipótese	Exp(B)		
	Teste de Wald		gl	<i>p</i>		
Etanol 80%	0,070	0,0047	220,50	1	0,000	1,07
Etanol 50%	0 <sup>a</sup>					1,00
15 minutos	-0,040	0,0036	124,27	1	0,000	0,96
5 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
10 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
(Escala)	7.64E-5 <sup>b</sup>	1,97E-05				

Fonte: Autoria própria (2022)

Para a melhor condição de concentração de solvente de radicais livres DPPH, a média foi  $193,24 \pm 0,50 \mu\text{mol}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$ . No trabalho de Santos *et al.* (2011), a melhor condição também foi dada a partir da menor concentração de etanol, provavelmente pela alta capacidade de extrair compostos fenólicos mais polares (preferência pela água durante o processo).

### 5.5 Método de sequestro de radical ABTS

As variações de concentração de etanol, tempo de extração e os dois fatores combinados foram significativas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 7).

Tabela 7 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste ABTS

	Teste de Wald	gl	<i>p</i>
(Intercepto)	203781,61	1	0,000
Etanol	100,67	1	0,000
Tempo	21,78	1	0,000
Etanol * Tempo	23,52	1	0,000

Fonte: Autoria própria (2022)

A melhor condição obtida para este método quando analisada a concentração foi 50% de etanol, tendo capacidade de extrair 116,80% a mais comparado à pior concentração (20% de etanol), quando analisada a razão de chance. Para a variável tempo, 5 minutos mostrou-se mais eficiente. E por fim, para



a concentração de solvente e o tempo combinados, a condição ideal foi a concentração de 50% de etanol e 10 minutos de extração (Tabela 8), obtendo média de  $17152,26 \pm 787,36 \text{ mmol L}^{-1}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$ , enquanto a pior condição (20% de etanol e 15 minutos) extraiu apenas  $7910,40 \pm 363,12 \text{ mmol L}^{-1}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$ .

**Tabela 8 - Estimativas de parâmetros para ABTS**

Parâmetro	B	Erro padrão	Teste de hipótese			Exp(B)
			Teste de Wald	gl	<i>p</i>	
(Intercepto)	8,98	0,046	38234,36	1	0,000	7910,40
Etanol 50%	0,77	0,065	142,13	1	0,000	2,17
Etanol 80%	0,68	0,065	110,75	1	0,000	1,98
Etanol 20%	0 <sup>a</sup>					1,00
10 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
5 minutos	0,44	0,06	45,29	1	0,000	1,55
15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 50% * 10 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 80% * 5 minutos	-0,45	0,092	23,52	1	0,000	0,64
Etanol 80% * 15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 20% * 5 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 20% * 15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
(Escala)	.013b	0,0033				

Fonte: Autoria própria (2022)

### 5.6 Método de poder antioxidante redutor férrico (FRAP)

Em relação aos fatores, todas foram significativas ( $p < 0,05$ ) para obter os resultados (Tabela 9).

**Tabela 9 - Influência significativa dos fatores no processo de extração para o teste FRAP**

	Teste de Wald	gl	<i>p</i>
(Intercepto)	29775646,00	1	0,0000
Etanol	682,13	1	0,0000
Tempo	482,09	1	0,0000
Etanol * Tempo	447,09	1	0,0000

Fonte: Autoria própria (2022)

Quando foi analisada apenas a concentração de solvente, a melhor condição foi a 50% de etanol e a partir da razão de chance (Exp(B)) foi possível analisar que a capacidade de extrair foi 28,80% a mais que a pior condição (20% de etanol). Para o tempo, 10 minutos teve melhor habilidades extratoras, com média de  $13969,04 \pm 52,70 \text{ mmol L}^{-1} \text{ de Fe}^{2+} \text{ g}^{-1}$ . Ao combinar os dois fatores, a condição ideal passou a ser 50% de etanol e 10 minutos no ultrassom, com 22,36% a mais de poder de extração, comparado com a concentração obtida na pior condição (20% de etanol e 15 minutos) (Tabela 10).

Tabela 10 - Estimativas de parâmetros para FRAP

Parâmetro	B	Erro padrão	Teste de hipótese			Exp(B)
			Teste de Wald	gl	p	
(Intercepto)	9,29	0,0038	38234,36	1	0,000	10845,57
Etanol 50%	0,25	0,0053	142,13	1	0,000	1,29
Etanol 80%	0,18	0,0053	6065359,17	1	0,000	1,19
Etanol 20%	0 <sup>a</sup>		2250,05			1,00
10 minutos	0 <sup>a</sup>		1116,85			1,00
5 minutos	0,16	0,0053		1	0,000	1,18
15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 50% * 10 minutos	0 <sup>a</sup>		928,85			1,00
Etanol 80% * 5 minutos	-0,16	0,0075		1	0,000	0,85
Etanol 80% * 15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
Etanol 20% * 5 minutos	0 <sup>a</sup>		447,09			1,00
Etanol 20% * 15 minutos	0 <sup>a</sup>					1,00
(Escala)	8.540E-	2,21E-05				
	5 <sup>b</sup>					

Fonte: Autoria própria (2022)

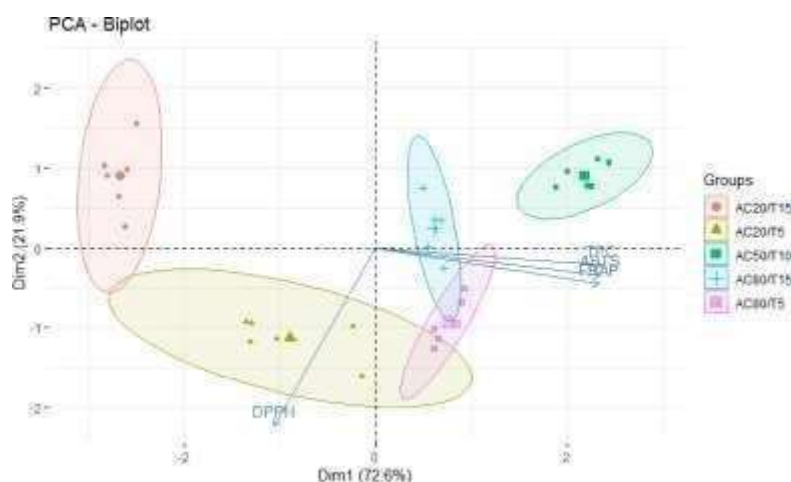
A melhor condição para a concentração de etanol pode ser explicada pelo trabalho de Galanakis et al. (2012), em que foi proposto a variação de solventes e

temperaturas de extração, para avaliar a atividade dos compostos fenólicos. Os fenóis tiveram preferência de solubilidade em solventes com polaridade intermediária, comparado a solventes mais polares ou menos polares. Isso pode ter ocorrido devido aos grupos hidroxila dos álcoois desenvolverem ligações de hidrogênio com os átomos de oxigênio que estão presentes nas moléculas de fenol. Portanto, a concentração intermediária de etanol teve maior capacidade de extrair os compostos fenólicos da casca do pinhão.

### 5.7 Análise de componentes principais (ACP)

Os resultados obtidos a partir do tratamento dos dados utilizando MLG, corroboram com o gráfico de análises de componentes principais (ACP) (Figura 7). Os resultados indicam uma porcentagem de variância de 94,5% (72,6% + 21,9%) mostrada nos eixos, além de um agrupamento das amostras em função da concentração de etanol e tempo de extração. Para os ensaios FRAP, ABTS e teor de fenólicos totais (TPC) agrupam-se próximos da condição de 50% de etanol ( $v v^{-1}$ ) e 10 minutos no ultrassom como melhor condição de extração. Para o teste DPPH, as amostras obtidas com 20% de etanol ( $v v^{-1}$ ), em 15 minutos no ultrassom também indicaram um agrupamento.

Figura 7 - Análises de componentes principais



Fonte: Autoria própria (2022)

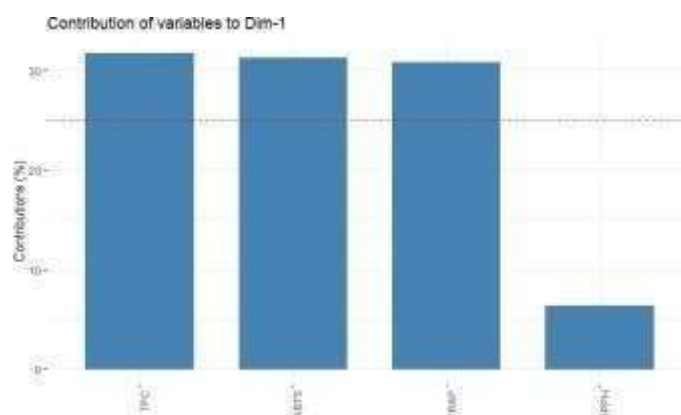
Sendo Dim 1: dimensão 1;

Dim 2: dimensão 2;

AC20/T15: 20% de etanol durante 15 minutos de extração;  
AC20/T5: 20% de etanol durante 5 minutos de extração;  
AC50/T10: 50% de etanol durante 10 minutos de extração;  
AC80/T15: 80% de etanol durante 15 minutos de extração;  
AC80/T5: 80% de etanol durante 5 minutos de extração.

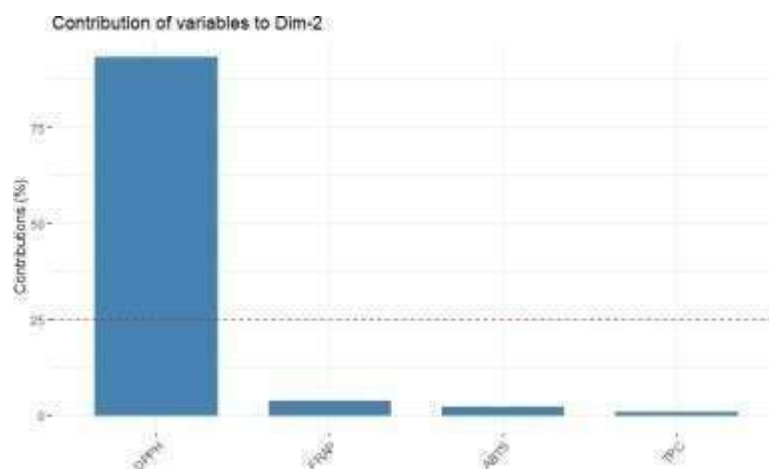
Os ensaios TPC, ABTS e FRAP contribuíram de forma significativa na dimensão 1 (Figura 8), enquanto o ensaio de sequestro do radical DPPH contribuiu na dimensão 2 (Figura 9).

**Figura 8 - Contribuição dos testes na primeira componente**



Fonte: Autoria própria (2022)

**Figura 9 - Contribuição dos testes na segunda componente**



Fonte: Autoria própria (2022)

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Por meio dos resultados apresentados foi possível afirmar que os fatores (concentração de etanol e tempo de extração) influenciaram de forma significativa na extração de compostos fenólicos com potencial antioxidante em extratos de casca de pinhão. Para o conteúdo de fenólicos totais e os métodos ABTS e FRAP, a melhor condição de extração foi a intermediária (50% de etanol e 10 minutos no ultrassom). Para o método DPPH, a condição ideal foi 20% de etanol e 5 ou 10 minutos no ultrassom. Essa diferença nos resultados pode ser explicada pelas características de cada método, ou seja, o DPPH extraiu antioxidantes mais polares, já que teve maior afinidade com a água.

De acordo com as análises, a atividade antioxidante encontrada na casca do pinhão foi bem alta comparada a outras plantas e sementes.

## REFERÊNCIAS

ALVES, Clayton Q. *et al.* Methods for determination of in vitro antioxidant activity for extracts and organic compounds. **Química Nova**, [s.l.], v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010. Disponível em: [https://www.scielo.br/j/qn/a/XS9CsdV86YbjrxfMjL\\_GmXVL/?lang=pt](https://www.scielo.br/j/qn/a/XS9CsdV86YbjrxfMjL_GmXVL/?lang=pt). Acesso em: 02 mai. 2022.

BARROS, Márcio de *et al.* Estudo da ação antioxidante da farinha de pinhão em biscoitos tipo *cookie*. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3., n. 6., p. 16116-16185, nov.-dez. 2020. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/19713/15805>. Acesso em: 26 abr. 2022.

BEHLING, Estela Beatriz *et al.* Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewfile/89/102>. Acesso em: 05 abr. 2022.

BENZIE, I. F.F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 239, p. 70-76, 1996.

BIANCHI, Maria de Lourdes Pires *et al.* Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Ver. Nut.**, Campinas, n. 12, p. 123-130, mai.-ago., 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/bzHBTqBfJr8jmJn3ZXx9nMs/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 05 abr. 2022.

BOGONI, Juliano André *et al.* Testing the keystone plant resource role of a flagship subtropical tree species (*Araucaria angustifolia*) in the Brazilian Atlantic Forest. **Perspectives in Ecology and Conservation**, [s.l.], v. 118, nov. 2020. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1470160X20307160?token=CCFE8E8F874B0F8AEA46B864FEA37D56BAC2FDFC3F87E87126BBA861514E67795748144EAEB5D4B1CF1CFFF49F851268&originRegion=us-east-1&originCreation=20220522212713>. Acesso em: 03 abr. 2022.

BRANCO, Cátia dos Santos *et al.* Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze in human larynx HEP-2 cancer cells. **Perspectives in Ecology and Conservation**, [s.l.], v. 231, p. 108-118. abr. 2015. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0009279715000976?token=AD0F337B7D5F888802AA6D5348B97F9F5FE9CB3F6CA8C14371646BC7C608F88DA270C0F591C7DACCCAEC9E279EA93408&originRegion=us-east-1&originCreation=20220522174226>. Acesso em: 05 abr. 2022.

BRAND-WILLIAN, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – food Science and Technology**. London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BUSTILLOS, Oscar Vega. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em Tandem HPLC-MS/MS. **Revista Analytica**, [s.l.], 2020. Disponível em:

<https://revistaanalytica.com.br/a-cromatografia-liquida-acoplada-a-espectrometria-de-massas-em-tandem-hplc-ms-ms/>. Acesso em: 15 mai. 2022.

CRUZ, Élder Pacheco *et al.* Avaliação microbiológica de pinhões (sementes de *Araucaria angustifolia*) *in natura* irradiados e refrigerados. In: **XXVIII Congresso de Iniciação Científica**. Pelotas: UFPEL, 2019. Disponível em: [https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2019/CA\\_01956.pdf](https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2019/CA_01956.pdf). Acesso em: 12 abr. 2022.

EMBRAPA. **Multimídia**: banco de imagens. 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/685001/pinhas-e-pinhoes>. Acesso em: 12 abr. 2022.

FERRERA, T. S. *et al.* Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erveiras sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 588-596, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/QvFTbwXjYw3Cm8rdQMK384c/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 05 abr. 2022.

FONSECA, Laura Martins *et al.* Aerogels based on corn starch as carriers for pinhão coat extract (*Araucaria angustifolia*) rich in phenolic compounds for active packaging. **Perspectives in Ecology and Conservation**, [s.l.], v.169, p. 362-370, fev. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813020352752>. Acesso em: 05 abr. 2022.

Galanakis, C.M., Goulash, V., Tsakona, S., Manganaris, G.A. and Gekas, V., 2013. A knowledge base for the recovery of natural phenols with different solvents. **Int. J. Food.** Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/10942912.2010.522750?needAccess=true>. Acesso em: 12 nov. 2022.

GARCIA, Carlos Eduardo Rocha *et al.* Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1510-1517, ago. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/qj4WGpHS7cmSqpf4BjtcZNz/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 08 mai. 2022.

GULÇIN, İlhami. **Antioxidant activity of food constituents**: An overview. 2011. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/51816333\\_Antioxidant\\_activity\\_of\\_food\\_constituents\\_An\\_overview](https://www.researchgate.net/publication/51816333_Antioxidant_activity_of_food_constituents_An_overview). Acesso em: 05 abr. 2022.

KOEHNLEIN, E. A. *et al.* Antioxidant activities and phenolic compounds of raw and cooked Brazilian pinhão (*Araucaria angustifolia*) seeds. **African Journal of Food Science**, v. 6, p. 512–518, 2012.

KUBASKI, André Luís *et al.* Análise térmica de diferentes amostras de amido de pinhão (*Araucaria angustifolia*) de diferentes regiões do sul do Brasil. In: **VII SiAT – Simpósio de Análise Térmica**. Bauru: Unesp, jul. 2015. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1021071/1/2015MarceloLSIATAnaliseTermica.pdf>. Acesso em: 03 abr. 2022.

MAGNUSSON, William Ernest *et al.* A linha de véu: a biodiversidade brasileira desconhecida. **Parc. Estrat.**, Brasília, DF, v. 21, n. 42, p. 45-60, jan-jun 2016. Disponível em: [https://ppbio.inpa.gov.br/sites/default/files/Magnusson\\_et\\_al\\_2016\\_Parc-Estrat\\_linha\\_do\\_veu.pdf](https://ppbio.inpa.gov.br/sites/default/files/Magnusson_et_al_2016_Parc-Estrat_linha_do_veu.pdf). Acesso em: 03 abr. 2022.

MARQUES, Nubia *et al.* *Drivers of change in tropical protected areas: Long-term monitoring of a Brazilian biodiversity hotspot.* **Perspectives in Ecology and Conservation**, [s.l.], v. 20, n. 2, p. 69-78, abr-jun 2022. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2530064422000116?token=D926042193CE84F3CD1B045E8019F86767B0A61D24D6C5E69F9B56BE826067C7DA2AB4A0B9A3086904B651A1FDCE1CD7&originRegion=us-east-1&originCreation=20220521234650>. Acesso em: 22 abr. 2022.

METZGER, Jean Paul *et al.* Por que o Brasil precisa de suas reservas legais. **Perspectives in Ecology and Conservation**, [s.l.], v. 17, n. 3., p. 104-116, jul-set 2019. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2530064419301750?token=4311654CBD091EEAF707755266874C4A27EDCCC3F9F8D9511098B3EDFF3E396891FAEE2E9B85C763AE8B38C776B011D1&originRegion=us-east1&originCreation=20220521234416>. Acesso em: 03 abr. 2022.

OLDONI, Tatiane Luiza Cadorin *et al.* Chemical Characterization and Optimization of the Extraction Process of Bioactive Compounds from Propolis Produced by Selected Bees *Apis mellifera*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, n. 10, 2054-2062, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbchs/a/z8cCrtRM5Mt3Ym483SMYD4C/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 24 jun. 2022.

OLIVEIRA, Gerlon A.R., Processos Químicos: Otimização de Processos de Extração. **Revista Científica da Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange**, 2014. Disponível em: [https://senaigoias.com.br/repositoriosites/repositorio/senai/download/Publicacoes/Revista\\_Cientifica\\_Processos\\_Quimicos\\_/2014/rpq\\_v16.pdf](https://senaigoias.com.br/repositoriosites/repositorio/senai/download/Publicacoes/Revista_Cientifica_Processos_Quimicos_/2014/rpq_v16.pdf). Acesso em: 24 nov. 2022.

OLIVEIRA, Melissa dos Santos *et al.* Bioaditivos e aditivos naturais em alimentos: Corantes, antioxidantes e aromatizantes. **Boletim Técnico-Científico**, [s.l.], v. 5, n. 2, 2019. Disponível em: <https://periodicos.iffarroupilha.edu.br/index.php/boletim-tecnico-cientifico/article/view/233>. Acesso em: 12 mai. 2022.

OLIVEIRA, Vanessa Patrocínio de. Flavonóides e doenças cardiovasculares: Ação antioxidante. **RMMG – Revista Médica de Minas Gerais**, Viçosa, v. 16.4, 2006. Disponível em: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/580>. Acesso em: 11 abr. 2022.

PÉREZ, Fernando Lucambio. **Modelos Linear Generalizados**, 2022. Disponível em: <http://leg.ufpr.br/~lucambio/GLM/GLM.html>. Acesso em: 24 nov. 2022.

PIGOZZI, Luiza *et al.* **Análise da composição centesimal, da presença de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em pinhão, sob diferentes formas de processamento.** [2016]. Disponível em:



<http://docente.ifsc.edu.br/michael.nunes/MaterialDidatico/Analises%20Quimicas/TC C%20II/TCC%202015%202/Luiza.pdf>. Acesso em: 07 mai. 2022.

PIMENTEL, Vitor *et al.* Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança? **Revista do BNDES**, n. 43, jun-2015. Disponível em:

[https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/5602/1/RB%2043%20Biodiversidade%20brasileira%20como%20fonte%20da%20inova%20a7%20a3o\\_P.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/5602/1/RB%2043%20Biodiversidade%20brasileira%20como%20fonte%20da%20inova%20a7%20a3o_P.pdf). Acesso em: 03 abr. 2022.

RE, R *et al.* Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation de colorization assay. **Free Radcial Biologocial Medicine**, 1999.

RIBEIRO, Rodrigo Medeiros *et al.* A política de garantia de preços mínimos para o pinhão. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Curitiba, 2015. DOI: 10.4336/2015. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/782/458>. Acesso em: 26 abr 2022.

ROSSETO, V.; Sampaio, T. M.; Oliveira, R.; Grala, K. *Araucária angustifolia*, 2018. Disponível em: <https://sites.unipampa.edu.br/programaarborizacao/araucaria-angustifolia/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

SANTOS, Anadalvo Juazeiro *et al.* Aspectos produtivos e comerciais do pinhão no estado do Paraná. **Floresta**, [s.l.], n. 32, p. 163-169, 2002. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/floresta/article/viewFile/2281/1906>. Acesso em: 14 out. 2022.

SANTOS, F.A. *et al.* Tratamento de efluente de galvanoplastia por meio da biossorção de cromo e ferro com escamas da pinha da *Araucaria angustifolia*. *Revista Escola de Minas*, [s. l.], 2011.

SAVI, Patrícia do Rocio Smolinski *et al.* Análise de flavonoides totais presentes em algumas frutas e hortaliças convencionais e orgânicas mais consumidas na região Sul do Brasil. **Demetra**, n. 12, p. 275-287, 2017. Disponível em: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/demetra/article/viewFile/22391/20077>. Acesso em: 19 jun. 2022.

SCHIOZER, A. L. *et al.* Estabilidade de corantes e pigmentos de origem vegetal. **Revista Fitos**, [s.l.], jun. 2007. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/19149/2/1.pdf>. Acesso em: 06 mai. 2022.

SGANZERLA, W.G. *et al.* Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis a base de amido de pinhão e pectina cítrica contendo farinha da casca de goiaba serrana (*Acca sellowiana*), 2021. Disponível em: <http://docente.ifsc.edu.br/michael.nunes/MaterialDidatico/Analises%20Quimicas/TC C%20II/TCC%202017%201/William%20Sganzerla.pdf>. Acesso em: 07 nov. 2022.

SILVA, Carla Grazieli Azevedo da *et al.* Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Quim. Nova**, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/3jpTtzsTcVYWK5FH7sSjvrS/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 04 jun. 2022.

SILVA, Lordêlo Cardoso *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrinha, v. 31, n. 3., p. 669-682, jun.-set. 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744097017.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2022.

SINGLETON, Vernon. L.; ORTHOFER, Rudolf.; LAMUELA, Rosa. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Methods of Enzymology*, San Diego, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOARES, Sérgio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas, n. 15, p. 71-81, jan.-abr., 2022. Disponível em: <http://old.scielo.br/pdf/rn/v15n1/a08v15n1.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2022.

VELOSO, Luana de Andrade. **Dossiê técnico**: corantes e pigmentos. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, 2012. Disponível em: <http://www.respostatecnica.org.br/dossie- tecnico/downloadsDT/NTcwOA==>>. Acesso em: 13 mai. 2022.

VICENTINI, Fernando Campanhã *et al.* Planejamento fatorial e superfície de resposta: otimização de um método voltamétrico para a determinação de ag(i) empregando um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono. **Quim. Nova**, v. 34, n. 5, p. 825-830, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/BLhYQKZKNfHP5F74tpvsf9f/? format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 24 jun. 2022.

VIEIRA JÚNIOR, Gerardo Magela *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, [s.l.], v. 30., n. 2, p. 351-355, abr. 2007. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/228820608\\_Fenois\\_totais\\_e\\_atividade\\_antioxidante\\_de\\_cinco\\_plantas\\_medicinais](https://www.researchgate.net/publication/228820608_Fenois_totais_e_atividade_antioxidante_de_cinco_plantas_medicinais). Acesso em: 07 mai. 2022.

VOGEL, Arthur. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC- Editora. 2002.

ZHANG, Xiaoyan *et al.* Plant extracts such as pine nut shell, peanut shell and jujube leaf improved the antioxidant ability and gas permeability of chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 1242-1250, abr. 2020. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0141813019382236?token=A6975BA18041D475E88E386DE9298A33246574251BE7474D95D7F279A3B29C6D1770E9671B986DFD598F55D8C1462137&originRegion=us-east-1&originCreation=20220623214501>. Acesso em: 24 jun. 2022.