

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA**

NATARA DUANE BORGES DE CASTILHOS

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS NA UVA
BRASIL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2011

NATARA DUANE BORGES DE CASTILHOS

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS NA UVA BRASIL

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: Dr^a Raquel Dalla Costa Da Rocha

Coorientadora: Dr^a Sirlei Dias Teixeira

FOLHA DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **Extração e Quantificação de Antocianinas na Uva Brasil** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° 029B2 de 2011.

Fizeram parte da banca os professores.

Raquel Dalla Costa da Rocha

Sirlei Dias Teixeira

Edilson da Silva Ferreira

DEDICATÓRIA

Lorete, a você que está comigo a cada passo da vida, sempre me apoiando, motivando e ensinando a ser uma pessoa melhor. A você, exemplo de garra, coragem e esperança, a quem tenho a honra de chamar de mãe.

AGRADECIMENTOS

A Deus, onde sempre encontrei respostas para os meus problemas.

A minha amiga conquistada junto a faculdade, Talita, por me entender, por me ajudar, por me dar forças, por rir comigo, por estar sempre presente.

Aos integrantes da República CH_3NH_2 , pelo companheirismo, pela amizade, pelas festas, pelas bebedeiras, pelas noites de poso, pelas lembranças adquiridas.

Ao Jaguamaica, pelas jaguajantas, pelos momentos de “eu não quero nem saber”.

A minha turma de faculdade.

Ao meu namorado por ouvir minhas indecisões.

Aos meus amigos, em geral, pelos momentos de reflexão e finais de semana.

Aos professores da COQUI pelo conhecimento transmitido e pela presença nas reuniõezinhas realizadas.

Aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui.

A todos meu carinho e muito obrigada.

EPÍGRAFE

“Se pude ver mais longe, foi por estar de pé sobre ombros de gigantes”.

Isaac Newton

RESUMO

CASTILHOS, Natara D. B. Extração e quantificação de antocianinas na uva Brasil. 2011. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

Essa pesquisa apresenta o desenvolvimento da extração de antocianinas da uva Brasil, que compõem o maior grupo de corantes solúveis em água do reino vegetal, a cor destes corantes depende da acidez encontrada no vacúolo da célula vegetal. Realiza um teste para determinar a presença de antocianinas extraídas. Com o auxílio do espectrofotômetro é mensurada a concentração de antocianinas como sendo de aproximadamente 102 mg/100 g de uva *in natura*. Ao final do processo são estudadas análises cromatográficas em HPLC e presume-se que as antocianinas extraídas possuem um tempo de retenção maior que 30 minutos, e que decorrente disso podem ser glicosiladas. Além dos estudos citados, é caracterizada a uva Brasil com relação a teor de umidade, teor de cinzas, pH, e sua acidez.

Palavras-chave: Uva. Extração. Antocianinas. Cromatograma.

ABSTRACTS

CASTILHOS, Natara D. B. Extracion and quantificacion of anthocyanins of the grape Brazil. 2011. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

This research presents the development of the extraction of grape anthocyanins Brazil, which make up the largest group of water soluble dyes in the plant kinfsum, the color of these dyes depends on the acidity found in the plant cell vacuole. Performs a test to determine the presence of anthocyanins extracted. With the help of the spectrophotometer is mensured the concentracion of anthocyanins as being approximately 102 mg/100 g of fresh grape. At the end of the process are studied in HPLC chromatographic analysis and it is assumed that the extracted anthocyanins have a retention time greater than 30 minutes, and that this result can be glycosylated. In addition to the studies cited the grape is characterized Brazil in relacion to moisture cintent, ash content, pH and acidity.

Keywords: Grape. Extraction. Anthocyanins. Chromatogram.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Estrutura básica dos flavonoides | 14 |
| Figura 2 - Estrutura química dos principais flavonoides | 15 |
| Figura 3 - Diagrama de fases | 24 |
| Figura 4 - Uvas Brasil liofilizadas | 30 |
| Figura 5 - Extrato de uva Brasil com influência do solvente hidrofílico, com pH diferentes..... | 31 |
| Figura 6 - Extrato de uva Brasil com influência do solvente lipofílico, com pH diferentes..... | 32 |
| Figura 7 - Resíduo remanescente da filtração à vácuo da solução de uva Brasil liofilizada..... | 33 |
| Figura 8 - Separação da clorofila do filtrado de uva Brasil liofilizada por extração com solvente éter etílico/éter de petróleo | 33 |
| Figura 9 - Espectro de varredura para antocianinas | 34 |
| Figura 10 - Cromatógrafo de extrato de uva Brasil em 520 nm..... | 37 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Estrutura, nome e localização das principais antocianinas | 18 |
| Tabela 2- Teste para antocianinas, antocianidinas e flovonoides | 27 |
| Tabela 3 - Médias na Caracterização Físico-Química das Amostras de Uva Brasil.. | 29 |
| Tabela 4 - Coloração com a influência do pH sobre extrato de uva | 31 |
| Tabela 5 - Absorbância encontrada para o extrato de uva Brasil em 520 nm | 35 |
| Tabela 6 - Absorbância encontrada para o extrato de uva Brasil em 700 nm | 35 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 REFERÊNCIAL TEÓRICO | 14 |
| 2.1 PIGMENTOS NATURAIS..... | 14 |
| 2.2 OS FLAVONOIDES..... | 15 |
| 2.3 AS ANTOCIANINAS..... | 16 |
| 2.4 ANTOCIANINAS COMO CORANTES NATURAIS | 18 |
| 2.5 A AÇÃO ANTIOXIDANTE | 20 |
| 2.5.1 Capacidade Antioxidante da Uva | 21 |
| 2.6 UVA BRASIL | 22 |
| 2.6.1 Caracterização Físico-química das Uvas | 22 |
| 2.7 LIOFILIZAÇÃO | 23 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS | 26 |
| 3.1 AMOSTRAS | 26 |
| 3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS..... | 26 |
| 3.3 DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA..... | 27 |
| 3.3.1 Preparação dos Extrato Hidrofílico..... | 27 |
| 3.3.2 Preparação dos Extratos Lipofílico..... | 27 |
| 3.4 DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA | 28 |
| 3.4.1 Preparação dos Extratos | 28 |
| 3.4.2 Análise Espectrofotométrica de Absorção Atômica..... | 28 |
| 3.4.3 Análise Cromatográfica | 28 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| 4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS..... | 29 |
| 4.2 DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA..... | 31 |
| 4.3 DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA | 33 |
| 4.3.1 Análise Espectrofotométrica de Absorção Atômica..... | 34 |
| 4.3.2 Análise Cromatográfica | 36 |
| CONCLUSÕES | 38 |
| REFERÊNCIAS | 39 |

1 INTRODUÇÃO

Os flavonoides são pigmentos naturais empregados na indústria de alimentos. Atualmente, constatou-se a proibição de muitos corantes sintéticos pelas legislações da Organização Mundial da Saúde (FAO-OMS), Food and Drug Administration (FDA) e Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde no Brasil, contribuiu para estimular a pesquisa de corantes naturais (LOPES, 2002).

Algumas funções atribuídas aos flavonoides, nas plantas são: proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioletas e visíveis, de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; atração de animais com finalidade de polinização; antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos; e inibidores de enzimas (ZUANAZZI e MONTANHA, 2004).

Os flavonoides são compostos heterocíclicos contendo oxigênio na molécula e encontrados somente em vegetais, se subdividem, posteriormente, em grupos diversos que incluem antocianinas, flavonas, flavonoides, flavononas, leucoantocianinas e compostos fenólicos relacionados (BOBBIO e BOBBIO, 1995; WENZEL, 2001).

As antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal (XAVIER, 2004). A cor destes pigmentos depende da acidez encontrada no vacúolo da célula vegetal, por exemplo, em meio ácido a antocianina é vermelha, em meio neutro é violeta e em meio básico é azul (RIBEIRO et al, 2004).

As antocianinas evitam a peroxidação de lipídeos, a agregação de plaquetas, reduzem os teores elevados de colesterol e triacilgliceróis, prevenindo a ocorrência de doenças cardiovasculares, atuam como antioxidantes, evitando doenças degenerativas, podem ser usados como anti-inflamatórios, além de poderem evitar a ocorrência de cataratas no globo ocular de indivíduos diabéticos (RIBEIRO et al, 2004).

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas a outras frutas e vegetais (ABE et. al, 2007). As antocianinas nas videiras acumulam-se nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas tintas, sendo encontradas também na polpa de algumas variedades de uvas. Em uvas tintas, as antocianinas constituem a maior porcentagem de compostos fenólicos (MALACRIDA e MOTTA, 2005).

Esse trabalho teve como objetivo determinar e extrair antocianina da uva Brasil, uma das espécies disponíveis na região para consumo *in natura*. O enfoque deste estudo foi a quantificação da concentração de antocianinas na mesma, além da caracterização das amostras de uva Brasil.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 PIGMENTOS NATURAIS

Os pigmentos são os compostos químicos responsáveis pelas cores das plantas ou animais ou mesmo dos minerais. É um corante seco, geralmente um pó insolúvel (LOPES, 2011). Os pigmentos naturais em alimentos servem primariamente para conferir cor, e hoje em dia sabe-se que estão relacionados com a prevenção e às vezes até na cura de doenças (RGNUTRI, 2011).

A grande maioria dos pigmentos naturais presentes em alimentos possuem estruturas químicas complexas com diferentes grupos funcionais na molécula. Podendo estes ser divididos em três classes (BOBBIO E BOBBIO, 1995; WENZEL, 2001):

- Carotenoides encontrados em vegetais e animais.
- Clorofilas presentes em vegetais, e os heme e as bilinas encontradas nos animais. São compostos heterocíclicos.
- Flavonoides são compostos heterocíclicos contendo oxigênio na molécula e encontrados somente em vegetais. Os flavonoides se subdividem, posteriormente, em um grupo diverso que inclui antocianinas, flavonas, flavonoides, flavononas, leucoantocianinas e compostos fenólicos relacionados.

As estruturas básicas e químicas dos flavonoides podem ser observadas nas figuras 1 e 2, respectivamente:

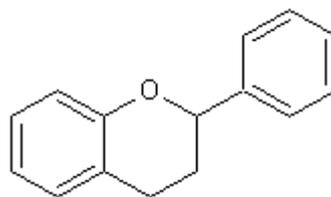


Figura 1 - Estrutura básica dos flavonoides
Fonte: Autor

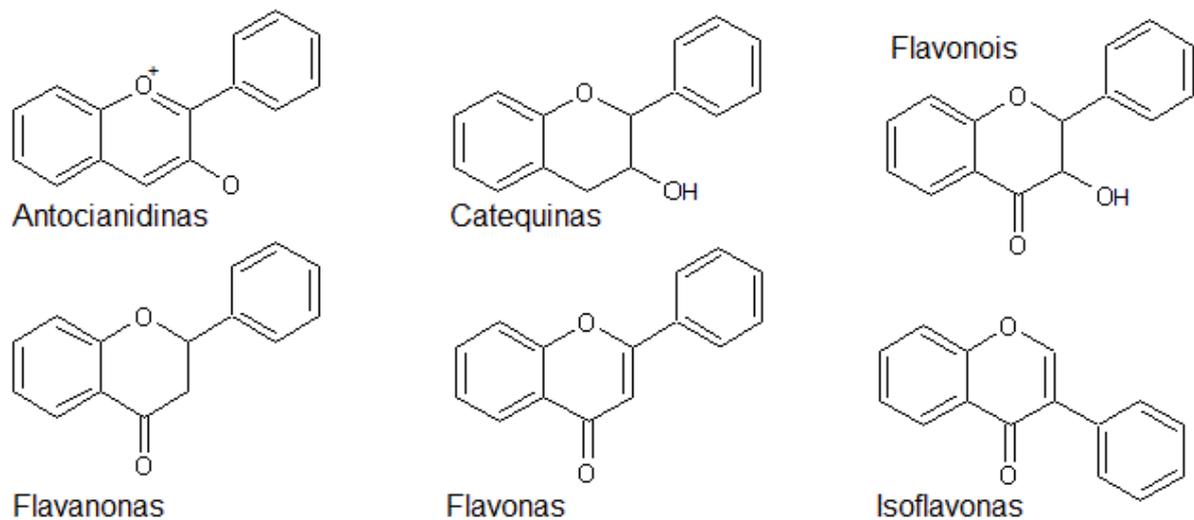


Figura 2 - Estrutura química dos principais flavonoides
Fonte: Autor

2.2 OS FLAVONOIDES

Os flavonoides constituem uma importante classe de polifenóis e estão presente em abundância em angiospermas (ZUANAZZI e MONTANHA, 2004). São compostos relacionados estão amplamente distribuídos nos tecidos vegetais. Estes pigmentos encontram-se nos vacúolos da célula vegetal, dissolvidos na seiva celular. Os flavonoides tem uma estrutura básica $C_6C_3C_3$ e constam de dois anéis benzênicos e uma cadeia tricarbonada, que, junto com o oxigênio, forma o anel central (WENZEL, 2001).

Podem-se citas as funções atribuídas aos flavonoides nas plantas: (a) proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioletas e visíveis, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; (b) atração de animais com finalidade de polinização; (c) antioxidantes; (d) controle da ação de hormônios vegetais; (e) agentes alelopáticos; e (f) inibidores de enzimas. (ZUANAZZI e MONTANHA, 2004).

Os flavonoides são compostos fenólicos agindo como potentes antioxidantes e formando quelatos com os metais (OLIVEIRA e CARVALHO, 1999). Os flavonoides agem contra vírus, bactérias, fungos e na alimentação, reprodução e desenvolvimento animal; e podem também interferir na germinação de sementes e

reprodução de mudas (OLIVEIRA e CARVALHO, 1999; ZUANAZZI e MONTANHA, 2004).

Também são corantes naturais presentes nos vegetais que desempenham um papel fundamental na proteção contra agentes oxidantes. Podendo facilmente atuar como neutralizadores de radicais livres num meio aquoso, devido as suas características anfipáticas (SILVA, 2011).

Atuam como agentes terapêuticos em um elevado número de patologias, tais como arteriosclerose e cancro (SILVA, 2011). Os flavonoides desempenham um papel importante na inibição de carcinogêneses, mutagêneses e doenças cardiovasculares, estando esta inibição relacionada com a sua atividade antioxidante *in vitro*. Alguns medicamentos são elaborados a partir de flavonoides, em particular, para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão e agindo como cofator da vitamina C, foram descobertos alguns flavonoides que são responsáveis por ação antitumoral considerável, podendo ainda agir como antivirais, anti-hemorrágicos, hormonais, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antioxidante (ZUANAZZI e MONTANHA, 2004).

Podem ser obtidos através da ingestão de alimentos que contenham ou através de suplementos nutritivos. Alguns exemplos de fontes de flavonoides são frutas, verduras, cerveja, vinho, chá verde, chá preto e soja. Os flavonoides presentes no vinho provem da uva, especialmente da pele, e do processo fermentativo (SILVA, 2011).

2.3 AS ANTOCIANINAS

As antocianinas são substâncias encontradas na natureza que possuem atividade farmacológica (RIBEIRO et. al, 2004) consideradas fitoquímicas (XAVIER, 2004). Estas substâncias evitam a peroxidação de lipídeos, a agregação de plaquetas, reduzem os teores elevados de colesterol e triacilgliceróis, prevenindo a ocorrência de doenças cardiovasculares, atuam como antioxidantes, evitando doenças degenerativas, podem ser usados como anti-inflamatórios, além de poderem evitar a ocorrência de cataratas no globo ocular de indivíduos diabéticos (RIBEIRO et al, 2004).

Alimentos e bebidas ricos em compostos fenólicos (como as antocianinas) são responsáveis pela prevenção de doenças, tais com câncer e doenças coronarianas isquêmicas (MALACRIDA e MOTTA, 2005).

Nas plantas, as antocianinas são bastante difundidas, ocorrendo ao menos em 27 famílias, 73 gêneros e em inúmeras espécies (XAVIER, 2004).

A cor destes pigmentos antocianínicos, depende da acidez encontrada no vacúolo da célula vegetal; por exemplo, em meio ácido a antocianina apresenta coloração vermelha, em meio neutro violeta e em meio básico azul (RIBEIRO et al, 2004).

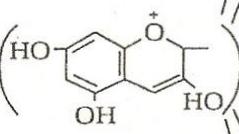
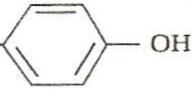
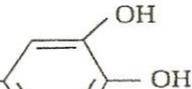
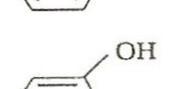
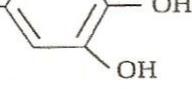
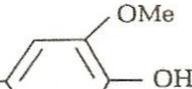
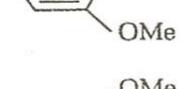
As antocianinas são moléculas polares, em função dos grupos substituintes polares (hidroxilas, carboxilas e metoxilas) e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos. Consequentemente, elas são mais solúveis em água do que em solventes não-polares, porém, dependendo das condições do meio, as antocianinas podem ser solúveis em éter (XAVIER, 2004). Estas características ajudam na extração e separação das antocianinas.

A cor da antocianina varia com as diversas estruturas moleculares. Quando se aumenta a oxidrilação, ou seja, quando o meio está básico, aumenta-se a tonalidade azul. A cor das antocianinas é, também, influenciada pela presença de outros compostos fenólicos. Outros flavonoides formam complexos com os glicosídeos das antocianinas mais frequentes em níveis de pH que oscila entre 2,0 e 5,0. Esta interação aumenta a tonalidade azulada das antocianinas (WENZEL, 2001).

Antocianinas tem cor vermelha intensa a valores de pH baixo devido à estrutura do íon flavilium, presente nas soluções com valor de pH abaixo de 3,0, portanto, a medida em que o pH aumenta a estrutura do íon flavilium passa a uma estrutura quinônica de cor violeta (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

Das antocianinas conhecidas as mais comuns em alimentos derivam das agliconas, como pode ser observado na Tabela 1:

Tabela 1 - Estrutura, nome e localização das principais antocianinas

| Estrutura do cátion flavilium | Estrutura do anel B | Nome | Glicosídeo encontrado em |
|---|---|---------------|---|
|  |  | Pelargonidina | Morango, amora vermelha, bananeira |
| |  | Cianidina | Jabuticaba, figo, cereja, uva, cacau ameixa, jambolão amora |
| |  | Delfinidina | Berinjela, romã e maracujá |
| |  | Malvidina | Uva, feijão |
| |  | Peonidina | Uva, cereja |
| |  | Petunidina | Frutas diversas, petúnias |

Fonte: Bobbio e Bobbio, 2001.

2.4 ANTOCIANINAS COMO CORANTES NATURAIS

A proibição do vermelho amarantho e de alguns corantes azuis, assim como uma restrição progressiva a que estão sujeitos muitos corantes sintéticos pelas legislações da FAO-OMS, FDA e Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde do Brasil contribuiu para estimular a pesquisa de corantes naturais, não tóxicos (LOPES, 2002).

Existe uma grande demanda de pesquisa para desenvolver corantes alimentícios a partir de fontes naturais, para diminuir (ou eliminar), gradativamente, a dependência do uso de corantes alimentícios sintéticos no processamento de alimentos (XAVIER, 2004).

Atualmente, são empregados pigmentos antocianínicos responsáveis pela cor vermelha de sucos de frutas, de vinhos e doces de confeitaria.

Dentre as frutas que contém pigmentos antocianínicos, estão incluídas as amoras, as framboesas vermelhas e pretas, os arandos, as cerejas, as groselhas, as uvas Concord e outras uvas vermelhas, as romãs, as groselhas maduras, as maçãs de casca vermelha, pétalas de flores vermelhas, etc. A cor das antocianinas varia com a estrutura molecular: aumentando o grau de hidroxilação, aumenta a coloração azul (WENZEL, 2001).

As antocianinas compõem o maior grupo de corantes solúveis em água do reino vegetal (XAVIER, 2004). Os corantes de antocianinas são considerados como aditivos eficazes e seguros na indústria alimentar, não sendo empregados em grande escala em razão de sua instabilidade decorrente de diferentes fatores físicos (como luz, pH, por exemplo), dificuldades de purificação e de síntese, e as possíveis reações com o dióxido de enxofre, muito empregado como conservante de alimentos (ZUANAZZI e MONTANHA, 2004).

A principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios (XAVIER, 2004).

As antocianinas que possuem dois grupos oxidrílicos adjacentes, não substituídos, reagem com íons de ferro, de alumínio ou de estanho para formar complexos cinzentos, azulados ou de cor de ardósia (WENZEL, 2001). Essa reação torna o alimento pouco atrativo.

Uma vez que estes pigmentos reagem com íons metálicos, os alimentos que contém antocianinas são processados em recipientes esmaltados. Os alimentos que contém antocianinas podem provocar perfurações na lata (WENZEL, 2001).

Além dos fatores já citados, uma alta temperatura de armazenamento, um pH alcalino, presença de oxigênio no espaço da cabeça do recipiente e a presença de açúcares e do ácido ascórbico favorecem a destruição do pigmento antocianínico (WENZEL, 2001).

2.5 A AÇÃO ANTIOXIDANTE

O oxigênio atmosférico (O_2) é o principal agente responsável pela deterioração de materiais orgânicos e alimentos expostos ao ar. Diversas classes de moléculas são susceptíveis ao ataque de O_2 , incluindo proteínas, aminoácidos, lipídios, além de ácidos graxos poli-insaturados, que também reagem com O_2 , formando hidroperóxidos (OLIVEIRA et. al, 1999).

Com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, são empregados compostos químicos conhecidos como antioxidantes (RAMALHO e JORGE, 2006).

O oxigênio, indispensável à vida de organismos aeróbicos, é essencial como acceptor de elétrons para uma produção eficiente de energia (SILVA, 2011). O oxigênio, envolvido no processo respiratório, em certas condições, no organismo, pode ser transformado em ânion superóxido, radical hidroxila, oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio, e todas essas variações estão envolvidas na toxicidade de oxigênio. A geração de tipos tóxicos de oxigênio ocorre em circunstâncias patológicas, incluindo reações inflamatórias (OLIVEIRA et al, 1999).

Desequilíbrio entre a formação de espécies com poder oxidante e sua destruição denomina-se por stress oxidativo e pode conduzir a um metabolismo anormal, à perda de funções fisiológicas, à doenças e, inclusive, à morte (SILVA, 2011).

Um forte oxidante é o oxigênio, tornando-se impossível impedir oxidações secundárias promovidas por esta molécula, que podem ter consequências graves se os seus produtos não forem neutralizados por um sistema antioxidante eficiente (SILVA, 2011).

Existem duas classes de compostos responsáveis pela situação de stress oxidativo: a primeira os radicais livres (espécies que possuem pelo menos um elétron desemparelhado, sendo bastante instável e promovendo transferências eletrônicas rápidas), e a segunda as espécies reativas de oxigênio – ROS (intermediários instáveis que derivam do oxigênio molecular) (SILVA, 2011).

Ensaio *in vitro* demonstraram que os flavonoides possuem atividade antioxidante e antimutagênica (XAVIER, 2004).

Esses agentes antioxidantes orgânicos seriam os responsáveis por evitar, entre outras doenças, a oxidação do colesterol LDL (SALINAS, 2002).

Em termos gerais, o fator que determina o caráter antioxidante de um dado flavonoide será a estabilidade redox do radical formado a partir do flavonoide original (SILVA, 2011).

2.5.1 Capacidade Antioxidante da Uva

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas a outras frutas e vegetais (ABE et. al, 2007).

Os compostos fenólicos das uvas podem ser classificados em flavonoides e não-flavonoides. Os do primeiro grupo fazem parte os flavanois (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonois (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos (ABE et. al, 2007).

As antocianinas nas videiras acumulam-se nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas tintas, sendo encontradas também na polpa de algumas variedades de uvas (MALACRIDA e MOTTA, 2005).

Em uvas tintas, as antocianinas constituem a maior porcentagem de compostos fenólicos. As principais antocianinas de uvas são a cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina e malvidina (ABE et. al, 2007; RIBEIRO et. al, 2004).

O conteúdo de antocianinas certamente varia de acordo com a coloração da uva, pois as cultivares de uvas mais escuras apresentaram os maiores teores de antocianinas, seguidas pelas uvas rosadas e sendo ausentes em uvas brancas (ABE et. al, 2007).

Nos EUA, nos anos 80, foi realizada uma pesquisa através da cura pela uva. Foi incorporado um sistema de cura natural do Dr. Benedict Lust, em Youngborn, Butler, New Jersey, e também na Flórida, os pacientes tinham todas as vantagens no sentido de poderem fruir um esplendoroso cenário natural, banhos de sol e tratamento hidroterápico, enquanto adotavam uma dieta exclusiva de uvas. Decorrido o tempo de tratamento os pacientes eram curados das piores doenças, como gastrite, cânceres de garganta, infecção de pele, entre outras. A ciência, contudo, não sabia ainda dizer quais são os elementos contidos na uva que destruíam os tumores malignos (BRANDT, 2011).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) constatou que, em certas regiões da França, onde havia maior consumo de vinhos, embora os indivíduos continuassem a ingerir altas quantidades de alimentos ricos em gorduras saturadas de origem animal, a população apresentava baixos índices de doenças cardiovasculares quando comparados com indivíduos de outras nações europeias. Verificou-se que a única diferença entre as dietas destes povos era o hábito que possuíam de ingerir regularmente vinho tinto. Foi comprovado que flavonoides (antocianinas), presentes no vinho são os responsáveis pela atividade antioxidante da bebida (LOPES, 2002).

O consumo de suco de uva como fonte de compostos fenólicos pode apresentar vantagem com relação ao do vinho, já que a ausência de álcool permite que o suco seja consumido pela maioria das pessoas. A extração a quente contribui para uma maior concentração de fenólicos no suco, mas o aquecimento durante o processamento e a estocagem pode ser uma das principais causas de degradação das antocianinas, formando pigmentos poliméricos mais estáveis, esses pigmentos são responsáveis por mudanças no aroma, cor e sabor do suco (MALACRIDA e MOTTA, 2005).

2.6 UVA BRASIL

Esta variedade nacional da uva Itália possui coloração negra na casca e roxa nas bagas. Surgiu por mutação natural a partir da uva Itália mantendo o sabor e a textura (SCHMIDT, 2011).

2.6.1 Caracterização Físico-química das Uvas

Caracterizar um alimento envolve analisar a sua constituição química, características físicas e sensoriais (PARK e ANTONIO, 2006).

A determinação de umidade está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição, e pode afetar as seguintes características do produto: estocagem, embalagem e processamento. A umidade é o principal fator para os processos microbiológicos, como o desenvolvimento de fungos, leveduras e

bactérias, e também para o desenvolvimento de insetos. A água pode estar presente na amostra sob duas formas: água livre e água ligada. Dependendo da natureza da amostra, requer temperaturas diferentes para a sua remoção, que frequentemente não é total e em alguns casos não é eliminada nem a temperaturas que carbonizem parcialmente a amostra (PARK e ANTONIO, 2006).

Segundo pesquisadores a porcentagem de água na uva é de 81,3%, nas partes comestíveis (BRAZILIANFRUIT, 2011).

A cinza de uma amostra de alimento é o resíduo inorgânico que permanece após a queima de matéria orgânica de uma amostra. É constituída principalmente de grandes quantidades de K^+ , Na^+ , Ca^{++} e Mg^{++} ; pequenas quantidades de Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{3+} , Mn^{3+} e Zn^{3+} e traços de Ar^- , I^- , F^- e outros elementos. A cinza obtida não é necessariamente da mesma composição que a matéria mineral presente originalmente no alimento, pois pode haver perda por volatilização ou alguma interação entre os constituintes da amostra (PARK e ANTONIO, 2006).

A quantidade de cinzas em 100 g de uva é 0,57g (BRAZILIANFRUIT, 2011).

A determinação do pH é uma determinação eletrométrica que avalia a concentração de íons hidrogênio em uma amostra. O valor do pH determina o tratamento térmico o qual o alimento deverá ser submetido e também interfere na textura de alimentos e ponto de gelificação de frutas (PARK e ANTONIO, 2006).

O valor do pH em uvas varia de 3,5 a 4,5 e é um dos responsáveis pelas características organolépticas e coloração de vinhos e sucos, juntamente com acidez total e outros compostos relacionados (SANTANA et al, 2008)

A acidez titulável encontrada na cultivar Patrícia é de 0,8 g de ácido tartárico/100 mL de suco, em outras variedades de uva é 0,91 g de ácido tartárico/100 mL de suco. A acidez titulável possui relação direta com a temperatura. Temperaturas elevadas favorecem baixa acidez, valores de acidez, para uva, acima de 1,5% considera-se acidez elevada (SANTANA et al, 2008).

2.7 LIOFILIZAÇÃO

A liofilização consiste em um processo de separação por sublimação, onde a água ou a substância aquosa é retirada como vapor do produto congelado passando da fase sólida para a fase gasosa (BORTOLATTO e LORA, 2011). A figura 3

apresenta um diagrama de fases, na qual a curva vermelha representa a passagem da fase sólida para a gasosa, como ocorrido no processo de liofilização.

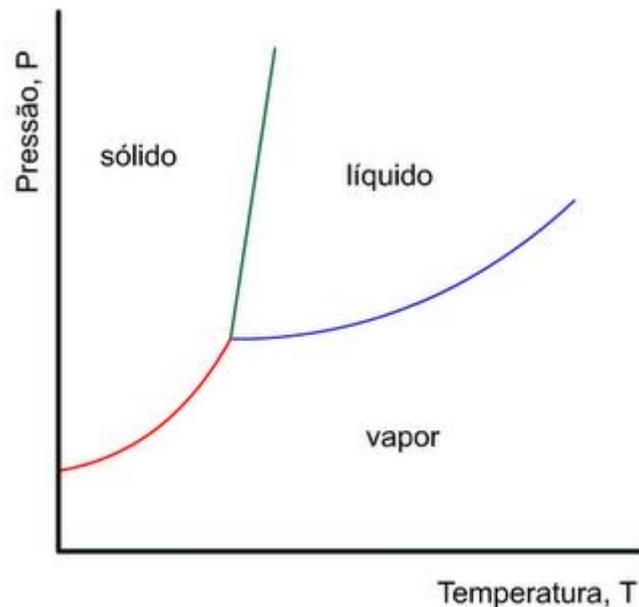


Figura 3 - Diagrama de fases
 Fonte: QUÍMICA DE "A" A "Z", 2011.

Liofilização ou criodessecação (freeze drying) é um processo de desidratação usado para preservar alimentos, onde estes são congelados e a água é retirada, por sublimação (PORTALEXTREMO, 2008).

A liofilização trabalha com a produção de vácuo e aumento gradativo da temperatura, reduzindo-se deste modo a pressão circunvizinha, o que permite à água congelada no material passar diretamente da fase sólida a fase gasosa, sem destruir as propriedades nutritivas do alimento, pois mantém intacta as paredes celulares, que seriam destruídas na evaporação (CLEEF et al, 2007).

A água interfere na alteração dos alimentos, mas a quantidade de água por si só não causa a deterioração dos mesmos, e sim a atividade de água que está disponível para o crescimento de microrganismos e para a realização de diferentes reações químicas e bioquímicas (BORTOLATTO e LORA, 2011).

A liofilização não causa, geralmente, o encolhimento ou endurecimento do material que está sendo desidratado, e os sabores/cheiros permanecem, também, virtualmente inalterados (PORTALEXTREMO, 2008).

Produtos que tenham elementos sensíveis ao calor, como proteínas e vitaminas, a liofilização conserva as propriedades nutritivas, pois as membranas das

células não se rompem com a perda do vapor de água. (SUPERINTERESSANTE, 1989).

Os produtos liofilizados, por apresentar no seu processo características de preservação dos nutrientes, são de grande interesse para a conservação de alimentos (BORTOLATTO e LORA, 2011).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS

As amostras de Uva Brasil foram coletadas em um estabelecimento comercial no município de Pato Branco – Paraná. Nos processos de caracterização determinação qualitativa e quantitativa de antocianinas as amostras foram avaliadas em triplicatas.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS

Primeiramente, classificam-se os grãos de uva Brasil a serem utilizados, lava-se com água corrente e seca-se com papel absorvente. É então, realizado o preparo do produto, corta-se a fruta para que a casca não seja uma barreira física para a saída de água. Pesa-se a amostra. Separam-se em cinco potes e fazem-se pequenos furos na tampa, para que a água que fosse retirada no processo de sublimação da amostra tivesse por onde escoar. O processo de liofilização utilizado foi proposto por Rodrigues (2008), o qual consiste em pré-congelar a amostra em menos de 0°C com posterior liofilização. Com o equipamento Liofilizador L101, pré-congela-se a amostra por 19 horas a uma temperatura de -57° C. Em seguida, troca-se o compartimento onde a amostra se encontrava, coloca-a na região de vácuo do Liofilizador L101. Nesse local, a amostra permaneceu por 30 horas a uma temperatura de -47° C. No fim do processo pesou-se a amostra. Utiliza-se o multiprocessador para reduzir a granulometria da amostra.

A determinação do percentual de umidade e cinzas foi realizada pelo método de calcinação proposto por Kiehl (1985).

O valor do pH da amostra foi medido por meio do método potenciométrico, seguindo a metodologia imposta pelo Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008).

A acidez titulável foi ordenada por potenciometria, segundo metodologia proposta por Santana (2008). O método baseia-se na titulação potenciométrica da amostra com solução de hidróxido de sódio (0,1 mol.L⁻¹), o qual se determina o ponto de equivalência até o pH 8,2.

3.3 DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA

3.3.1 Preparação dos Extrato Hidrofílico

É seguida a metodologia proposta por Matos (1997), com utilização de solvente hidrofílico água/etanol (30:70), extrai-se o material agitando-se frequentemente, aquece-se a mistura em banho-maria e faz-se a filtração do extrato a quente. Primeiramente, grosseiramente, através de um algodão, e em seguida com um filtro de papel.

Ao alterar-se o pH da solução observa-se o aparecimento das cores diversas e analisa-se a tabela sugerida por Matos (1997).

Tabela 2- Teste para antocianinas e antocianidinas

| Constituintes | Cor em meio | | |
|--------------------------------|-------------|----------------|------------------|
| | Ácido (3) | Alcalino (8,5) | Alcalino (11) |
| Antocianinas e Antocianidinas | Vermelho | Lilás | Azul púrpura |
| Flavonas, Flavonóis e Xantonas | - | - | Amarelo |
| Chalconas e Auronas | Vermelho | - | Vermelho púrpura |
| Flavonóides | - | - | Vermelho laranja |

Fonte: Matos, 1997

3.3.2 Preparação dos Extratos Lipofílico

Em um cartucho para Soxhlet coloca-se a amostra e faz-se a extração a quente com éter etílico por 3 horas. Ao alterar-se o pH da solução observa-se o aparecimento das cores diversas e analisa-se com os valores da Tabela 2 sugerida por Matos (1997).

3.4 DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA

3.4.1 Preparação dos Extratos

A extração dos pigmentos foi realizada de acordo com Teixeira et al (2008). O diferencial é a utilização de matérias liofilizadas e não trituradas. Posteriormente, o extrato foi purificado, extraindo-se (três extrações sucessivas de 10 mL cada) o conteúdo de clorofila.

3.4.2 Análise Espectrofotométrica de Absorção Atômica

As substâncias antocianínicas possuem uma característica particular que permitem quantificá-las por método espectrofotométrico UV, na região de 520nm e 700 nm. Segundo Teixeira et al (2008), através da variação de pH observa-se diferença direta de absorbância que permite estimar a fração real de antocianinas presentes.

3.4.3 Análise Cromatográfica

Os extratos obtidos foram injetados em triplicata, 10 amostras, no sistema HPLC, para a pesquisa em μ C18 e 20 com absorção de energia na região do visível. O equipamento empregado foi um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC). Tendo como gradiente de eluição ácido acético 0,1% / ácido acético 0,1% em acetonitrila (30:70). A temperatura da coluna durante a corrida cromatográfica foi de 40°C. Os comprimentos de ondas investigados foram 520 e 700nm (BARRETO et al, 2005). Com o objetivo de amenizar as dificuldades sobre a falta de padrões, Março e Poppi (2008) citam um método para a identificação de antocianinas baseado no tempo de retenção. Na metodologia proposta, observa-se o tempo de retenção de uma antocianina que está presente na maioria das frutas vermelhas: a cianidina-3-glucosídeo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS

As médias dos resultados obtidos na caracterização físico-química das amostras de uva estão apresentadas na Tabela 3. Estes resultados foram comparados com parâmetros obtidos por outros pesquisadores.

As características das amostras podem variar com o período do ano, a temperatura e o clima da região.

Tabela 3 - Médias na Caracterização Físico-Química das Amostras de Uva Brasil

| Parâmetros | Resultados | Parâmetros de comparação |
|----------------------|--------------|---|
| Umidade (%) | 91,10 ± 1,40 | 81,3 Brazilianfruit (2011) |
| Cinzas (%) | 0,48 ± 0,07 | 0,57 Brazilianfruit (2011) |
| pH | 3,16 ± 0,17 | Entre 3,5 e 4,5 Park e Antonio (2006) |
| Acidez Titulável (%) | 0,88 ± 0,12 | 0,8 Santana et al (2008); 0,91 Souza-Leão & Pereira (2001) |

As cinzas produzidas no processo de calcinação podem ser o resíduo inorgânico remanescente da queima da matéria orgânica, sem resíduo de carvão. Geralmente, a cinza contém cálcio, magnésio, ferro, fósforo, sódio e outros componentes minerais e a umidade de um alimento está relacionada com sua estabilidade e qualidade e composição (VICENZI, 2011). As médias dos valores de umidade e cinzas das uvas obtidas nos experimentos estão de acordo com Brazilianfruit (2011), no qual foi determinado teor de cinzas e umidade de 0,57% e 81,3%, respectivamente.

A média de teor de umidade de 91,10% foi encontrada a partir da liofilização da uva Brasil, esse método emprega a produção de vácuo e aumento gradativo da temperatura, o que permite à água congelada no material passar diretamente da fase sólida ao gás, sem destruir as propriedades nutritivas do alimento, pois mantém intactas as paredes celulares, que seriam destruídas na evaporação (CLEEF et al, 2007).

A amostra liofilizada apresentou sabor característico (ácido e doce) e odores voláteis típicos de uva. Como pode ser observada na figura 4, a amostra apresenta o formato de meia esfera condicionada pelo tratamento da amostra, onde antes do congelamento a fruta foi cortada ao meio.



Figura 4 – Uvas Brasil liofilizadas

O valor do pH apresenta o grau de maturação dos produtos, além de estar interligado com a sua qualidade (VICENZI, 2011). A média dos valores de pH obtidos nos experimentos ($3,16 \pm 0,17$) se apresentam abaixo dos valores determinados por Park e Antonio (2006), valores entre 3,5 e 4,5. Porém a diferença não é significativa, uma vez que o valor do pH da fruta pode ser influenciado pelo tipo de solo e clima da região.

A acidez total titulável é a quantidade de ácido de uma amostra que reage com uma base de concentração conhecida, e se tratando de uva, o ácido de maior concentração é o tartárico. A proporção relativa de ácidos orgânicos presentes em frutas e vegetais varia de acordo com o grau de maturação e as condições de crescimento (VICENZI, 2011). As amostras de uva apresentaram acidez titulável média de $0,88 \pm 0,12\%$, valores próximos dos determinados por Santana et al (2008) 0,8%, e Souza-Leão & Pereira (2001), 0,91%.

Em uvas, valores de acidez acima de 1,5% considera-se uma acidez elevada. A acidez nessa fruta está diretamente relacionada com a temperatura da região de plantio, quanto maior a temperatura ambiente maior a acidez titulável da fruta (SOUZA-LEÃO & PEREIRA, 2001).

4.2 DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA

De acordo com a metodologia de Matos (1997), amostras que contém antocianinas em meio lipofílico e hidrofílico acarretará a uma extração de constituintes. E ao alterar o valor do pH do meio apresentará cores variadas. A Tabela 4 apresenta as colorações das amostras de uva Brasil para diferentes valores de pH

Tabela 4 - Coloração com a influência do pH sobre extrato de uva

| pH | Solvente Hidrofílico etanol/água (70:30) | Solvente Lipofílico éter etílico |
|------|---|-------------------------------------|
| 3,0 | Vermelho | Verde brilhante |
| 8,5 | Verde musgo | Verde brilhante |
| 11,0 | Azul escuro | Verde brilhante |

As figuras 5 e 6 apresentam a coloração formada com a variação de pH, da esquerda para a direita, em ambas as imagens, tem-se pH de 3,0; 8,5 e 11,0.

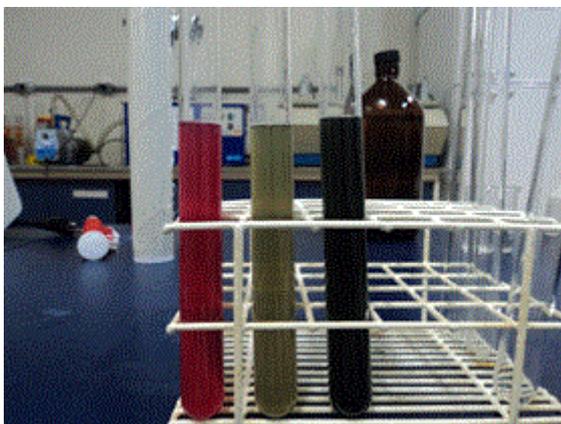


Figura 5 - Extrato de uva Brasil com influência do solvente hidrofílico, com pH diferentes (da esquerda para a direita, tem-se valores de pH de 3,0; 8,5 e 11,0)



Figura 6 - Extrato de uva Brasil com influência do solvente lipofílico, com pH diferentes (da esquerda para a direita, tem-se valores de pH de 3,0; 8,5 e 11,0)

Segundo Matos (1997), caso a solução com solvente hidrofílico alterasse sua coloração para vermelho (pH = 3,0), lilás (pH = 8,5) e azul-púrpura (pH = 11,0) a mistura possuiria antocianinas e antocianidinas. A coloração obtida foi positiva para os valores de pH igual a 3,0 e 11,0.

Caso a coloração da mistura lipofílica também alterasse sua coloração para vermelho (pH = 3,0), lilás (pH = 8,5) e azul-púrpura (pH = 11,0), esse resultado positivo poderia indicar a presença de um ou mais dos seguintes constituintes: fenóis simples, catequinas e flavonoides, mas que para comprová-los precisar-se-ia fazer testes específicos. Como se sabe, as substâncias que pretende-se qualificar são as antocianinas, as quais pertencem ao grupo flavonoides.

Essa mudança na coloração das soluções pode sofrer influência de outras substâncias. Segundo Matos (1997), a presença de um constituinte pode mascarar a cor indicativa da presença de outro. O que pode ter acontecido com a solução hidrofílica no pH igual a 8,5, o qual se apresentou verde musgo ao invés de lilás.

Pode-se observar que as antocianinas são extraídas com solventes hidrofílicos, ou seja, polares. Ao proceder-se as análises utilizou-se uma solução de etanol/água (70:30) (TEIXEIRA et al, 2008), que são substâncias que se misturam completamente formando uma solução homogênea e incolor. As antocianinas por possuírem grupos –OH (apresentados na Tabela 1) se solubilizam nesse solvente. A polaridade da solução é compatível com a das antocianinas.

4.3 DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ANTOCIANINAS NA AMOSTRA

As amostras foram resfriadas por 24 horas (T: 5° C), juntamente com o solvente etanol/água (70:30).

As amostras pós-resfriamento foram filtradas em papel de filtro, separadas da clorofila por extração éter etílico/éter de petróleo (1:1) e centrifugadas a 2000 rpm por um tempo de 10 minutos, o sobrenadante foi utilizado para a análise espectrofotométrica e cromatográfica.

A figura 7 apresenta a matéria orgânica que restou da filtração à vácuo, pode-se observar uma ausência de coloração na mesma devido a extração de seus corantes (antocianinas), pois estes estavam contidos na solução extratora.

A figura 8 mostra a extração de clorofila em uma mesma amostra, pode-se notar que há um decréscimo na coloração, devido à primeira extração ser a que mais retira os pigmentos clorofilados das amostras ela possui maior coloração amarela, a seguir a segunda, e por último a terceira a extração.



Figura 7 - Resíduo remanescente da filtração à vácuo da solução de uva Brasil liofilizada

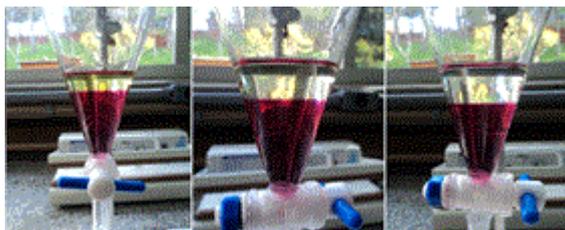


Figura 8 - Separação da clorofila do filtrado de uva Brasil liofilizada por extração com solvente éter etílico/éter de petróleo

4.3.1 Análise Espectrofotométrica de Absorção Atômica

A análise quantitativa de antocianinas, foi estudada pelo método de pH diferencial segundo Barreto et al (2005).

O espectro de absorção das antocianinas situa-se na faixa de 520-530 nm. De acordo com a figura 9 o comprimento de onda de 520 nm proporciona um pico máximo de absorbância para antocianinas.

O comprimento de onda de 700 nm serve para descontar a turbidez da amostra (ABE et al, 2007).

Estudaram-se os comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm (TEIXEIRA et al, 2008). As médias dos valores das absorbâncias e a concentração de antocianinas nas amostras são apresentadas na Tabela 5 e 6, respectivamente.

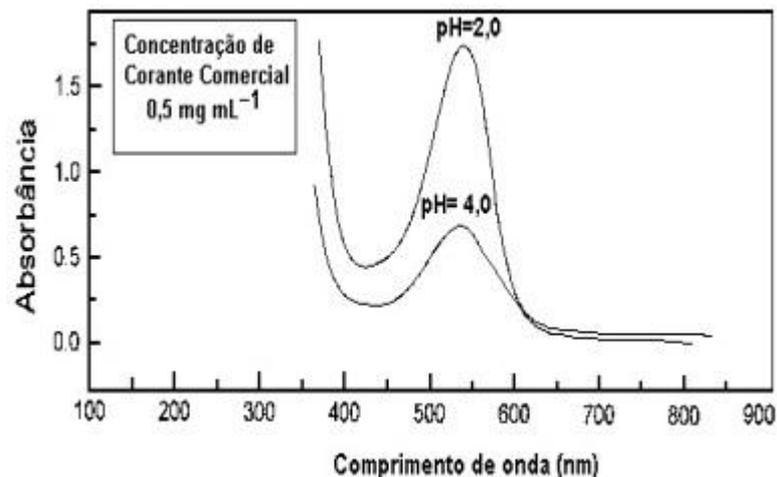


Figura 9 - Espectro de varredura para antocianinas
Fonte: LOPES, 2002.

A amostra A é a média da triplicata de amostras contendo clorofila, as amostras B, C e D são o material que passou pela metodologia de extração de clorofila e a amostra B-C-D é uma média das referentes amostras.

Fez-se o estudo com amostras contendo clorofila, amostra A, para ter-se base do quanto essa substância influenciaria na espectrofotometria. No comprimento de onde de 520 nm, a interferência que a clorofila causa é de 1,022 uA, já em 700 nm a interferência é registrada como sendo 0,018 uA. Ao analisar-se a amostra A nos valores de pHs de 1,0 e 4,5 não só as substâncias antocianínicas

mudavam sua coloração, mas também as clorofilas. Para que a análise ter uma maior proximidade com seu valor real é necessário retirar a clorofila do meio.

Tabela 5 - Absorbância encontrada para o extrato de uva Brasil em 520 nm

| Amostra | pH = 1,0 - 520 nm | pH = 4,5 - 520 nm | Diferença direta | Concentração |
|---------|-------------------|-------------------|------------------|--|
| A | 1,909 uA | 0,533 uA | 1,376 uA | $5,11 \times 10^{-5} \text{ g.L}^{-1}$ |
| B | 0,398 uA | 0,274 uA | 0,124 uA | $4,61 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |
| C | 0,154 uA | 0,083 uA | 0,071 uA | $2,64 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |
| D | 0,262 uA | 0,206 uA | 0,056 uA | $2,08 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |
| B-C-D | 0,542 uA | 0,188 uA | 0,354 uA | $1,32 \times 10^{-5} \text{ g.L}^{-1}$ |

Tabela 6 - Absorbância encontrada para o extrato de uva Brasil em 700 nm

| Amostra | pH = 1,0 - 700 nm | pH 4,5 - 700 nm | Diferença direta | Concentração (g.L ⁻¹) |
|---------|-------------------|-----------------|------------------|--|
| A | 0,161 uA | 0,097 uA | 0,064 uA | $2,38 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |
| B | 0,145 uA | 0,104 uA | 0,041 uA | $1,52 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |
| C | 0,041 uA | 0,011 uA | 0,030 uA | $1,11 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |
| D | 0,117 uA | 0,049 uA | 0,068 uA | $2,53 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |
| B-C-D | 0,101 uA | 0,055 uA | 0,046 uA | $1,71 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ |

Quando se eleva valor do pH para 4,5 do extrato que continha antocianinas, este passa a se apresentar em condições que praticamente não apresentam coloração, ou seja, apresentam menor absorção de energia. Por outro lado, quando reduz o pH para 1,0, os pigmentos antocianínicos, exibem coloração vermelha intensa, sendo sua absorbância máxima (TEIXEIRA et al, 2008)

A diferença de absorbância observada possibilita, por diferença direta, estimar a fração de antocianinas presentes.

As concentrações, apresentada nas Tabelas 5 e 6, foram geradas de acordo com a Lei de Beer-Lambert, e o coeficiente de absorvidade molar foi utilizado como sendo $26.900 \text{ L.cm}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ (MOTA, 2006).

Em comprimento de onda de 520 nm, a concentração de antocianinas no extrato de uva foi de aproximadamente 117 mg/100g de uva *in natura*, e em 700 nm 15mg/100g de uva *in natura*. Portanto, Ao considerar-se o valor encontrado em 700 nm como sendo a turbidez, a concentração de antocianinas é de 102 mg/100g de uva *in natura*. A concentração máxima de antocianinas totais obtidas por Valduga et al (2008) foi de 300 mg/100 g de bagaço de uva, um número 2,94 vezes maior que o calculado pelo experimento.

Esse valor encontrado está a baixo do comparado com a literatura, devido o Valduga et al (2008) ter utilizado somente o bagaço da fruta, sendo na uva o epicarpo (a casca) a parte que contém maior pigmento, e por consequência maior concentração de antocianinas.

4.3.2 Análise Cromatográfica

Ao utilizar-se o tempo de retenção (TR) como parâmetro comparativo para quantificação de antocianinas convém ressaltar que para moléculas com hidrofobicidade o TR é influenciado pelo grau de glicosilação e pela natureza dos açúcares presentes nesses pigmentos. Devido essa característica o tempo dentro da coluna é prolongado para antocianinas com ácidos acilados, pois aumenta sua afinade com a fase estacionário (FE) (LIMA et al, 2006).

Os resultados obtidos por Favaro e Rossi (2007) com o padrão de ci-3-gli (presente na maioria de frutas vermelhas) em equipamento HPLC possuem TR de aproximadamente 11 minutos.

Os estudos de Sampaio e Rossi (2007) encontraram aproximadamente 24 minutos para cianidina-3-rutinosídeo e aproximadamente 15 minutos para delphinidina-3-rutinosídeo.

O TR indicado para separação de antocianinas aciladas em HPLC, utilizando coluna C18 de fase reversa é de 70 minutos. Na pesquisa de Lima et al (2006) os cromatogramas obtidos possuem picos registrados antes de 15 minutos, ou seja, os pigmentos estudados não possuíam ácidos em suas moléculas.

Os resultados obtidos com a extração da uva Brasil com etanol/água (70:30) com posterior extração de clorofilas e estudo cromatográfico gera a figura 10, que é a representação gráfica contendo os picos gerados com o equipamento HPLC.

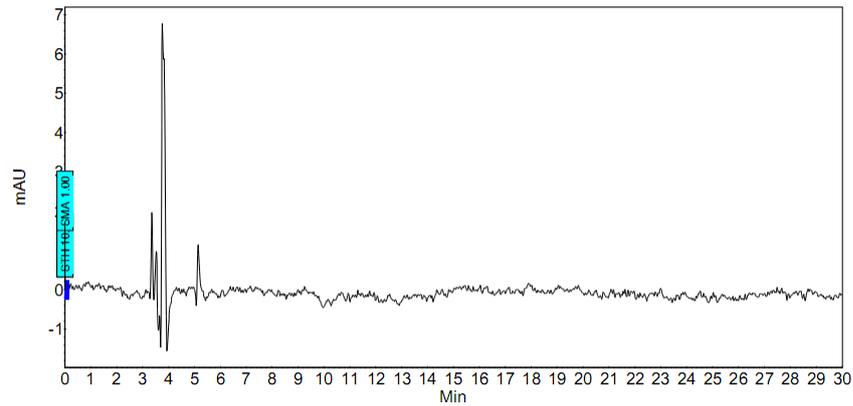


Figura 10 - Cromatógrafo de extrato de uva Brasil em 520 nm

Pode-se observar que não há pico considerável para o estudo de antocianinas. Os primeiros picos formados até 6 minutos são decorrentes da fase móvel e depois desse valor nenhum outro pico é formado até 30 minutos. As amostras estudadas, ou seja, os demais cromatogramas gerados decorrentes das triplicatas possuem essa mesma característica de ausência de pico.

De acordo com as análises de Lima et al (2006) antocianinas glicosiladas possuem um TR mais elevado em relação as antocianinas aglicolicas. Pode-se presumir que as antocianinas em questão possuíam um TR maior que 30 minutos, e que decorrente disso podem ser glicosiladas.

CONCLUSÕES

As caracterizações físico-químicas das amostras de uva Brasil encontram-se entre a faixa de valores literários, apresentando insignificantes variações que são causadas pelas condições climáticas da Região e nutricionais do solo utilizado para a cultura. Com a determinação qualitativa pode-se concluir que existem antocianinas presentes na uva Brasil. Com a análise quantitativa, com o auxílio do espectrofotômetro, tem-se a capacidade de mensurar a concentração de antocianinas como sendo de aproximadamente 102 mg/100g de uva *in natura*, concentração cabível comparada ao referencial. Ao utilizar-se o HPLC presume-se que as antocianinas extraídas possuíam um tempo de retenção maior que 30 minutos, e que decorrente disso podem ser glicosiladas.

REFERÊNCIAS

- ABE, Lucile T.; MOTA, Renata V. D.; LAJOLO, Franco V.; GENOVESE, Maria I. **Compostos Fenólicos e Capacidade Antioxidante de Cultivares de Uvas *Vitis labrusca L.* e *Vitis vinifera L.*** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 394-400, abr.-jun. 2007.
- PORTALEXTREMO. **Alimentos Liofilizados**. Disponível em: <<http://www.extremos.com.br/noticias/081007-1.as.p>>. Acesso em: 01 jun. 2011.
- BARRETO, Kamila.; CAVALCANTE, César.; CRAVEIRO, Afrânio. **Método de Extração Direta de Antocianinas para Utilização como Corante Fotoexcitável em Células Solares**. Anais da 57ª Reunião Anual da SBPC. Fortaleza, CE. Julho/2005.
- BOBBIO, Florinda O.; BOBBIO, Paulo A. **Manual De Laboratório De Química De Alimentos**. São Paulo – SP: Livraria Varela, pág. 103-107, 1995.
- BORTOLATTO, Juliana; LORA, Juliana. **Avaliação da Composição Centesimal do Abacaxi (*Ananas comosus (L.) merril*) Liofilizado e *in natura***. Periódicos Unesc. 2011.
- BRANDT, Johanna. **O Valor Medicinal Da Uva**. 1 ed. Austrália: Edições “ A Edificação Do Lar”. Pág. 30 e 51.
- BRAZILIANFRUIT. **UVA: Referências nutricionais e dietéticas**. Disponível em: <http://www.brazilianfruit.org/Informacoes_para_o_Consumidor/informacoes_nutricionais_uva.asp?produto=10>. Acesso em: 15 ago. 2011.
- CLEEF, Eric H. C. B.; EZEQUIEL, Jane M. B.; GONÇALVES, Josemir S.; PASCOAL, Leonardo A. F. **Determinação da Matéria Seca das Fezes de Ovinos e da Carne de Peito de Frango através do Método Tradicional e por Liofilização**. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504. Volume VIII. Número 6. 2007.
- FAVARO, Martha M. A.; ROSSI, Adriana V. **Quantificação Total de Antocianinas de Frutas Típicas Brasileiras por CLAE com Uso de Padrão de Cianidina-3-glicosídeo**. 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2007.
- KIEHL, E. J. **Fertilizantes Orgânicos**. São Paulo: Editora Agronômica - CERES, 1985.
- LIMA, Vera L. A. G.; PINHEIRO, Irapuan O.; NASCIMENTO, Márcia S.; GOMES, Patrícia B.; GUERRA, Nonete B. **Identificação de Antocianinas em Acerolas do Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 26(4): 927-935, out.-dez. 2006
- LOPES, Antônio. **Extração de Pigmentos Naturais**. Disponível em: < <http://www.cienciaviva.pt/projectos/scienceduc/pigmentos.pdf>>. Acesso em: 30 mai. 2011.
- LOPES, Toni J. **Adsorção de Antocianinas do Repolho Roxo em Argilas**. 2002. 121f. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

LUTZ, Adolfo. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

MALACRIDA, Cassia R.; MOTTA, Silvana. **Compostos Fenólicos Totais e Antocianinas em Suco de Uva**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 659-664, out.-dez. 2005.

MARÇO, Paulo H.; POPPI, Ronei J. **Procedimentos Analíticos para Identificação de Antocianinas Presentes em Extratos Naturais**. Quim. Nova, Vol. 31, N^o. 5, 1218-1223, 2008.

MATOS, J. F. A. **Introdução à Fotoquímica Experimental**. 2 ed. Fortaleza: UFC Edições. 1997.

MOTA, RENATA V. **CARACTERIZAÇÃO DE SUCO DE AMORA-PRETA ELABORADA EM EXTRATOR CASEIRO**. CIÊNC. TECNOL. ALIMENT. VOL.26 N^o.2. CAMPINAS, APRIL/JUNE, 2006. ISSN 0101-2061.

OLIVEIRA, MÁRCIA C. C.; CARVALHO, MÁRIO G. **FLAVONOIDES DAS FLORES DE STIFFITIA CHRYSANTHA MIKAN**. QUÍM. NOVA VOL.22 N.2 SÃO PAULO MAR./APR. 1999. ISSN 0100-4042

OLIVEIRA, Tânia T.; NAGEM, Tanus J.; SILVA, Marilda C.; MIRANDA, Carlos G. M.; TEIXEIRA, Marco A. **Ação Antioxidante de Flavonoides Modificados**. Pesq. agropec. bras., Brasília, v. 34, n.5, p.879-883, maio 1999.

PARK, Kil J.; ANTONIO, Graziella C. **Análises de Materiais Biológicos**. UNICAMP. 2006.

QUÍMICA De “A” A “Z”. Disponível em: < <http://quimicadeaz.blogspot.com/2009/06/experien-cia-2curva-de-aquecimento-da.html>>. Acesso em: 02 jun. 2011.

RAMALHO, VALÉRIA C.; JORGE, NEUZA. **ANTIOXIDANTES UTILIZADOS EM ÓLEOS, GORDURAS E ALIMENTOS GORDUROSOS**. QUÍM. NOVA VOL.29 NO.4 SÃO PAULO JULY/AUG. 2006. ISSN 0100-4042.

REVISTA SUPERINTERESSANTE. **O Que São Alimentos Liofilizados?**. Superinteressante. Abril, ed. 24. set. 1989.

RGNUTRI. **Pigmentos** – Importantes Para Dar Cor Aos Alimentos E Com Grandes Benefícios A Saúde. Disponível em: <<http://www.rgnutri.com.br/sqv/saude/pigi.php>>. Acesso em: 30 mai. 2011.

RIBEIRO, Joselito N.; OLIVEIRA, Tânia T.; NAGEM, Tanus J.; FLORES, Araceli V. **Avaliação da Toxicidade da Antocianina de Uva, Através da Quantificação Espectrofotométrica de Constituintes do Sangue, e Medida de Massa Corporal de Coelho Saudáveis**. Revista Analytica. N^o12. •Agosto/Setembro. 2004.

RODRIGUES, Ivo. **Liofilização**. Esac. 2008.

SALINAS, Ronaldo D. **Alimentos e Nutrição: Introdução À Bromatologia**. 3 ed. Porto Alegre – RG: Artmed, pág. 170-171, 2002.

SANTANA, Merce T. A.; SIQUEIRA, Heloísa H.; LACERDA, R. J.; LIMA, Luiz C. O. **Caracterização Físico-química e Enzimática de Uva Patrícia Cultivada na Região de Primavera do Lesta – MT.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 32, n. 1, p. 186-190, jan./fev., 2008.

SAMPAIO, Patrícia G.; ROSSI, Adriana V. **Identificação de Antocianinas de Extratos de Frutas por HPLC com Detecção Espectrofotométrica e por HPLC-ESI-Q-TOF-MS.** 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2007.

SCHMIDT, Wandra. **Tesouro Cadeia Alimentícia: Uva Brasil.** 2011. Disponível em: <<http://info.thes.inf.br/cadeia-alimenticia/tr1927.htm>>. Acesso em: 12 out. 2011.

SILVA, Maria B. S. **Flavonoides com Capacidade Antioxidante.** Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. 2011.

SOUZA-LEÃO, P. C.; PEREIRA, F. M. **Avaliação de Seis Variedades de Uvas sem Sementes no Submédio São Francisco.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.36, n. 4, p. 607-613, 2001.

TEIXEIRA, Luciana N.; STRINGHETA, Paula C.; OLIVEIRA, Fabiano A. **Comparação de Métodos para Quantificação de Antocianinas.** Revista Ceres. ISSN 0034-737X. p. 297-304, 2008.

VALDUGA, Eunice; LIMA, Leandra; PRADO, Roberta; PADILHA, Francine; TREICHEL, Helen. **Extração, Secagem por Atomização e microencapsulamento de Antocianinas do Bagaço da Uva Isabel (*Vitis labrusca*).** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 32, n. 5, p. 1568-1574, set./out., 2008.

VICENZI, R. **Apostila de Análise de Alimentos. Curso de Química Industrial de Alimentos.** Universidade de Ijuí – SC, 2011.

WENZEL, Guido E. **Bioquímica Experimental dos Alimentos.** São Leopoldo – RS: Editora Unisinos, pág. 128-143, 2001.

XAVIER, Marcelo F. **Estudo da Extração de Antocianinas em Colunas Recheadas.** 2004. 120f. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

ZUANAZZI, José A.; MONTANHA, Jarbas A. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5 ed. Porto Alegre – RS: Editora da UFSC, pág. 577-604, 2004.