



**UNICAMP**

**MICHELLY CRISTIANE PALUDO**

**ESTUDO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (*IN VITRO*),  
QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS E COMPOSTOS  
FENÓLICOS TOTAIS DA JABUTICABA SABARÁ *Myrciaria*  
*jaboticaba* (Vell.) O. Berg **E SUA GELEÍIA****

**CAMPINAS  
2013**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**MICHELLY CRISTIANE PALUDO**

**EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE  
(*IN VITRO*) DAS ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS  
TOTALS DA JABUTICABA SABARÁ *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O.  
Berg E SUA GELEIA**

**Orientador: Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestra em Ciência de Alimentos.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL  
DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR MICHELLY  
CRISTIANE PALUDO E ORIENTADA PELO PROF. DR.  
MARCELO ALEXANDRE PRADO.

Assinatura do Orientador

-----

**CAMPINAS**

**2013**

iii

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE  
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

P189e Paludo, Michelly Cristiane, 1986-  
Estudo da capacidade antioxidante (in vitro),  
quantificação das antocianinas e compostos fenólicos  
totais da jabuticaba Sabará *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O.  
Berg e sua geléia / Michelly Cristiane Paludo. -- Campinas,  
SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Marcelo Alexandre Prado.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de  
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Jabuticaba. 2. Geléia. 3. Antocianinas. 4.  
Compostos fenólicos. 5. Antioxidantes. I. Prado,  
Marcelo Alexandre. II. Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.  
Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Study of antioxidant capacity (in vitro) quantification of  
anthocyanins and phenolic compounds total jabuticaba *Sabara Myrciaria*  
*jabuticaba* (Vell.) O. Berg and your jelly

Palavras-chave em inglês:

Jabuticaba

Jelly

Anthocyanins

Phenolic compounds

Antioxidants

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestra em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Marcelo Alexandre Prado [Orientador]

Flávio Luís Schmidt

Julliana Izabelle Simionato

Data da defesa: 05-07-2013

Programa de Pós Graduação: Ciência de Alimentos

## **BANCA EXAMINADORA**

.....  
Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado  
Orientador

.....  
Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt  
Membro Titular  
UNICAMP

.....  
Profa. Dra. Julliana Izabelle Simionato  
Membro Titular  
UTFPR

.....  
Prof. Dr. Mário Roberto Maróstica Junior  
Membro Suplente  
UNICAMP

.....  
Dra. Raquel Grando de Oliveira  
Membro Suplente  
UFRJ



“Ser adulto não é fácil. Ainda mais em mundo competitivo e cruel. É preciso aprender a se virar na maioria das vezes sozinho, aprender a seguir em frente sem se desesperar independente do que aconteça e de quanto pareça impossível superar as dificuldades e obstáculos. Aprender a pedir ajuda e a ouvir “não vou lhe ajudar” ou “o problema é seu”. Aprender a nunca esquecer e dar extremo valor às pessoas que falaram “eu te ajudo” e realmente fizeram isso. Aprender a ajudar a todos. Aprender a agradecer. Portanto ser adulto é amargo e doce ao mesmo tempo. Sábio quem consegue lembrar e dar importância apenas ao lado doce, ignorando todo o amargo.”



Dedico este trabalho aos meus pais, que apoiaram e proporcionaram que eu chegasse até aqui, a todos que realmente acreditaram que eu era capaz de fazer isto e ir muito além.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais que sempre me incentivaram, apoiaram e me amaram acima de tudo, aguentando minhas choradeiras por não saber fazer alguma coisa ou por dar alguma coisa errada. Jamais esquecerei uma frase que meu pai sempre me falava e que sempre me ajudou “Deus jamais da uma cruz maior do que você consegue carregar, se cortar um pedaço quando chegar no rio ela não vai ser suficiente para servir de ponte, vai ter que voltar e pegar o pedaço que deixou para traz.” Ele tem toda a razão, muitas vezes me consolei lembrando desta frase. Não poderia deixar de contar quem é a grande culpada hehe por eu trabalhar com jabuticaba é minha mãe que plantou vários pés desta fruta no quintal de casa e assim forneceu matéria prima para minha pesquisa de conclusão de curso (TCC), e desde então nunca mais parei de pesquisar a jabuticaba e produtos derivados dela.

Aos meus irmãos, a minha irmã que ficava me ouvindo durante horas no telefone até me falar à realidade que “eu podia chorar a vontade que quando eu cansasse ia lavar o rosto e começar tudo de novo” que ela também já tinha passado por isso.

Ao meu namorado que esteve ao meu lado me consolando e acalmando nos momentos de desespero, comemorando comigo minhas vitórias e conquistas, e sempre me ajudando em tudo que ele podia.

Aos amigos de perto (Campinas) e de longe (Paraná e Mato-Grosso), sempre dispostos a longas conversas pessoalmente ou por telefone, ou na mesa do bar rindo muito dos problemas ao invés de chorar.

A Barbara, estagiária que me ajudou extremamente trabalhando lado a lado comigo na execução de toda a parte prática da minha pesquisa, sempre com muita disposição, boa vontade e otimismo.

Ao seu Armando representante da indústria sucnat, que forneceu toda a matéria prima para o meu trabalho, com todo o cuidado em separar lotes fazer a geléia com o mesmo lote da fruta fornecia com a maior boa vontade. Realmente



sem essa imensa ajuda não teria sido possível a realização deste trabalho, pois não pesquisa sem amostra.

A alguns colegas de trabalho que muito mais que isso foram grandes amigos, falando “sussega menina que no que eu poder te ajudo” e realmente ajudaram, ensinando as metodologias com os detalhes que não estão no roteiro, e em tudo que podiam, emprestando por várias vezes os equipamentos que precisava para que conseguisse realizar minha pesquisa, ou simplesmente ouvindo o desabafo.

Ao seu Dirceu que ajudou muito lavando as milhares de vidrarias todos os dias na maior boa vontade e preocupação para que não faltasse nenhuma que eu precisava, e precisava de todas do laboratório sem exagero. As técnicas dos laboratórios que trabalhei sempre dispostas a explicar o que sabiam, e a ajudar em tudo que podiam. Aos professores Flávio (DTA), Mario (DPAN) e a Helena (DCA), por emprestarem os equipamentos necessários para realizar minha pesquisa.

Ao CNPQ pelo auxílio financeiro fornecido.

Ao professor Marcelo (meu orientador), que sempre teve muita paciência comigo e acompanhou estes 2 anos trabalho intensos que eu tive.



## ÍNDICE GERAL

RESUMO GERAL.....	XXV
ABSTRACT.....	XXVII
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
CAPÍTULO 1.....	13
ASPECTOS GERAIS DO FRUTO E GELÉIA DA JABUTICABA SABARÁ ( <i>Myrciaria jabuticaba</i> (Vell.) O. Berg). E TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS TOTAIS E COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.	
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1.1 Jabuticaba.....	14
1.2 Geléia.....	17
1.3 Antioxidantes.....	20
1.4 Antocianinas.....	21
1.5 Métodos de Extração para Antocianinas.....	23
1.6 Métodos de Quantificação das Antocianinas.....	24
1.7 Compostos Fenólicos.....	26
1.8 Método de Extração para Compostos Fenólicos.....	27
1.9 Métodos de Quantificação dos Compostos Fenólicos.....	29
1.10 Métodos de Determinação da Capacidade Antioxidante.....	29
1.11 Referências Bibliográficas.....	32



CAPÍTULO 2.....	49
-----------------	----

EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*  
DAS ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DA JABUTICABA  
SABARÁ *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg E SUA GELÉIA.

RESUMO.....	50
ABSTRACT.....	52
2.1 INTRODUÇÃO.....	54
2.2 MATERIAS E MÉTODOS.....	58
2.2.1 Amostras.....	58
2.2.2 Extrção das Antocianinas e Compostos Fenólicos Totais pelo Método da Agitação.....	59
2.2.3 Quantificação das Antocianinas Totais pelo Método do pH Diferencial.....	59
2.2.4 Extração dos Compostos Fenólicos pelo Método do Ultrason.....	61
2.2.5 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais pelo Método Folin-Ciocalteu.....	62
2.2.6 Determinação da Atividade Antioxidant pelo Método ABTS [2,2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)].....	63
2.2.7 Determinação da Capacidade Antioxidante pelo Sistema FRAP.....	64
2.2.8 Determinação da Umidade.....	65
2.2.9 Determinação de Cinzas.....	65
2.2.10 Determinação de Lipídios – Método de Bligh-Dyer.....	66
2.2.11 Determinação de Nitrogênio Total (proteína total) – Método de Kjeldahl.....	67
2.2.12 Determinação de Açúcares – Método de Lane-Eynon.....	68
2.2.13 Determinação do pH.....	70
2.2.14 Determinação do Grau Brix (sólidos solúveis totais).....	71
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	71



2.3.1 Análises Físico-Químicas.....	71
2.3.1.2 Análise de porcentagem de umidade das amostras.....	72
2.3.1.3 Análise do teor de cinzas das amostras.....	73
2.3.1.4 Análise do nível de lipídios das amostras.....	73
2.3.1.5 Análise da concentração de proteínas nas amostras.....	74
2.3.1.6 Análise da porcentagem de carboidratos das amostras.....	75
2.3.1.7 Análise do pH das amostras.....	76
2.3.1.8 Análise de sólidos solúveis totais nas amostras.....	76
2.3.2 Análises das Antocianinas Totais das Amostras.....	77
2.3.3 Análise de Fenólicos Totais nas Amostras.....	80
2.3.4 Análise da Atividade Antioxidante das Amostras pelo Método FRAP.....	86
2.3.5 Análise da Atividade Antioxidante pelo Método ABTS.....	89
2.4 CONCLUSÃO.....	93
2.5 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	105
ANEXOS.....	107



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização da fruta, casca com a polpa e da geléia (g/100g).....	71
Tabela 2. Teor de antocianinas totais, expresso em equivalente de cianidina-3-glicosídeo (mg/100g), em base úmida.....	77
Tabela 3. Teor de fenólicos totais dos extratos obtidos pela extração com agitação e pela extração com ultra-som. Equivalente de ácido gálico (mg/g de base úmida) .....	80
Tabela 4. Atividade antioxidante pelo método FRAP dos extratos da M. jabuticaba e de suas frações e geléia equivalente de ácido gálico e trolox (mg/g de amostra) em base úmida .....	86
Tabela 5. Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] dos extratos de M. jabuticaba suas frações e sua geléia equivalente em ácido gálico e trolox (mg/g de amostra) em base úmida.....	90



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Teor de umidade das amostras.....	115
Gráfico 2. Teor de cinzas das amostras.....	115
Gráfico 3. Teor de lipídios das amostras.....	116
Gráfico 4. Teor de proteínas das amostras.....	116
Gráfico 5. Teor de carboidratos das amostras.....	117
Gráfico 6. pH das amostras.....	117
Gráfico 7. Grau Brix das amostras.....	118
Gráfico 8. Teor de antocianinas das amostras.....	118
Gráfico 9. Teor de compostos fenólicos totais das amostras obtidas pela extração por agitação.....	119
Gráfico 10. Teor de compostos fenólicos totais das amostras obtidos pela extração por ultra-som.....	119
Gráfico11. Teor de compostos fenólicos totais das amostras obtidos pelas extrações por agitação e ultra-som.....	120
Gráfico 12. Atividade antioxidante das amostras pelo método FRAP, obtidas através da extração por agitação.....	120
Gráfico 13. Atividade antioxidante das amostras pelo método FRAP, obtidas através da extração por ultra-som.....	121
Gráfico 14. Atividade antioxidante das amostras pelo método FRAP obtidas através das extrações por agitação e ultra-som.....	121
Gráfico 15. Atividade antioxidante das amostras pelo método ABTS, obtidas através da extração por agitação.....	122
Gráfico 16. Atividade antioxidante das amostras pelo método ABTS, obtidas através da extração por ultra-som.....	122
Gráfico 17. Atividade antioxidante das amostras pelo método ABTS, obtidas através das extrações por agitação e ultra-som.....	123



## Resumo Geral

A jabuticaba Sabará *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg é uma fruta nativa do Brasil e possui grande potencial econômico e comercial. Esta fruta é rica em compostos fenólicos. Entre estes estão as antocianinas, pigmentos vegetais que conferem forte coloração roxa. Estes compostos possuem alta capacidade antioxidante, e estão relacionados a benefícios há saúde e prevenção câncer, doenças cardiovasculares, envelhecimento precoce, entre outros. A geléia de jabuticaba possui uma vida de prateleira longa e como tal fácil de ser comercializada, pois exige menores cuidados no transporte e armazenamento se comparada a fruta *in natura*, (muito perecível). Assim a geléia pode chegar aos consumidores onde a fruta não é encontrada e ser exportada para países onde não é cultivada, além de ser uma forma de aproveitar as propriedades da fruta durante o decorrer do ano. Neste trabalho foi realizada a extração e quantificação dos compostos fenólicos e das antocianinas totais da jabuticaba, de suas frações (casca, polpa e semente) e de sua geléia, através de métodos rápidos e eficazes, bem como a avaliação de seu potencial antioxidante (*in vitro*). Como esperado, a casca da jabuticaba concentra o maior teor dos compostos citados acima assim como a maior atividade antioxidante. A geléia consegue manter uma quantidade significativa desses compostos e de sua capacidade antioxidante, provando sua importância como derivado da fruta.

**Palavras Chaves:** Jabuticaba, geléia, antocianinas, compostos fenólicos, antioxidantes.



## **Abstract**

The jabuticaba Sabara *Myrciaria jabuticaba* (Vell) O. Berg is a native fruit from Brazil which has a great economic and commercial potential. This fruit contains a significant amount of phenolic compounds, and among those se can find anthocyanins, a plant pigment that provides a dark purple coloration, these compounds brins with them a high antioxidant capacity and are extremely befcial to ones health, preventing cancer, cardiovascular diseases, aging before the time and other benefits. The jabuticaba's jam has a long shelf life, which makes it easier to be sold, because less caution with transport and ware houses are required, specially when compared to the fruit 'self. With that, the jam can be brought to places where the fruit found be foruns, such as further regions and other countries, and also is a method to have the fruit benefits through the whole year. Therefore, in this research, the extraction of phenolic compounds and total anthocyanins was made, from the Jabuticaba, its parts (peel, pulp and seed) and the its jam as well. This was made through fast and efficient methods, and so was the quantification of these compounds and the evaluation of its antioxidant potential *in vitro*. As expected the peel contains the higher concentration of the compounds and the biggest antioxidant capacity, the jam may keep a significant part of these compounds and the antioxidant capacity, proving how vital is the fruit and its jam.

**Key Words:** Jabuticaba, jelly, anthocyanins, phenolic compounds, antioxidants.



## **Introdução Geral**

A jabuticabeira, árvore frutífera de origem subtropical (Mata Atlântica), possui extraordinária capacidade de adaptação a diversos climas e solos (GOMES, 1973; SILVA, 2001). Esta planta tem despertado grande interesse dos produtores rurais devido a sua alta produtividade, rusticidade e aproveitamento dos seus frutos nas mais variadas formas (BRUNINI et al., 2004).

As características físicas e químicas dos frutos desta espécie variam em função do cultivar, condições climáticas, locais de cultivo, manejo e tratamentos pós colheita (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

A fruta em questão é nativa do Brasil, apresenta um período curto de maturação, identificado pela mudança de coloração do verde para o preto, o que diminui os riscos de uma colheita com frutos desuniformes Paludo (2009), possui bagas subglobosas, negras quando madura, lisa, contendo de 1 a 4 sementes. A casca é fina e frágil, e a polpa é doce de leve acidez, de ótimo sabor e coloração variando de branca a translúcida (ASCHERI et al., 2006; CORRÊA et al., 2007).

As cascas da jabuticaba são boas fontes de pigmentos naturais, isso se deve aos altos teores de antocianinas que elas possuem (REYNERTSON et al., 2006; SILVA, 2010). As cascas da espécie Sabará apresentam maior teor de compostos fenólicos que da variedade Paulista (LIMA, 2008). Isso demonstra que a Sabará proporciona ao consumidor uma dieta rica em compostos bioativos com importantes ações antioxidantes (TEIXEIRA et al., 2008).

Os antioxidantes geralmente são definidos como família heterogênea de moléculas naturais, presentes em pequena quantidade, quando comparadas às biomoléculas que protegeriam (proteínas, carboidratos e lipídeos) e assim previnem ou reduzem a extensão do dano oxidativo (HALLIWEL, 1990; HALLIWEL & GUTTERIDGE, 2007). Eles não se tornam radicais livres através da doação de elétrons, visto que são constantes em ambas as formas. Dividem-se em duas categorias básicas: sintéticos e naturais, são capazes de capturar radicais livres estabilizando-os. Estes atuam nos organismos vivos através de diferentes mecanismos, como: complexação de íons metálicos, captura de radicais livres,

decomposição de peróxidos, inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e na modulação de vias sinalizadoras celulares (VASCONCELOS et al., 2006).

Entre os compostos antioxidantes estão às antocianinas do grego *anthos* flores e *kianos* azul, isso foi sugerido por Marquat, em (1835), para se referir aos pigmentos azuis, violetas e vermelhos das flores (MARQUAT, 1835; IKAN, 1969). Provavelmente são os pigmentos naturais mais conhecidos (TEXEIRA et al., 2008).

Quando elas são adicionadas aos alimentos, além do poder de coloração, também previnem contra a auto-oxidação e peroxidação de lipídios em sistemas biológicos (ANVISA, 2010). As possibilidades de utilização das antocianinas, principalmente na indústria de alimentos, deixam claro a importância de estudos sobre estes pigmentos (LOPES et al., 2002).

Uma das etapas mais importantes do processo de análise de alimentos é a extração dos compostos da matriz, procurando sempre extrair da forma mais específica possível os compostos de interesse, eliminando vários interferentes. Assim existem vários métodos de extração para as antocianinas os quais geralmente utilizam metanol acidificado com ácido clorídrico (Lopes et al., 2002), extração com o soxhlet, que utiliza etanol como solvente (Santos, 2010), extração em fase sólida (SPE) que utilizam cartuchos C<sub>18</sub> e Sephadex (COSTA et al., 2000; ESCRIBANO-BAILÓN et al., 2003; MOLNÁR-PERL et al., 2005; RIJKE et al., 2006; SANTOS et al., 2010).

No trabalho de Santos et al., (2010), foram realizados 4 métodos de extração para antocianinas da casca da jabuticaba. O autor considera como melhor método de extração o que utilizou mesa de agitação a 30<sup>0</sup> C e etanol como solvente. Este procedimento foi considerado rápido (2 horas) e simples.

Na quantificação das antocianinas são utilizados métodos espectrais. Os aspectos quantitativos podem ser medidos pelos fatores espectrofotométricos das antocianinas, em que a quantia total destas nos extratos brutos, que geralmente contém outros compostos fenólicos, tem sido quantificada principalmente por espectrofotometria, através da medida da absorbância da solução em um dado

comprimento de onda. Isso é viável porque elas possuem uma absorção típica na região do visível, entre 490 e 550 nm, enquanto que os outros fenólicos (interferentes) não absorvem nessa região do visível (FULEKI & FRANCIS, 1968 a).

O método do pH diferencial se baseia nas características espectrofotométricas e foi introduzido por Sondheimer & Kertesz (1948). Este método permite rapidez nas medidas de determinação das antocianinas totais. Portanto o método do pH diferencial é o mais indicado para quantificar as antocianinas totais. É simples e rápido, pelo fato de não necessitar da construção de uma curva analítica. Sendo um dos métodos mais destacado na literatura (WROLSTAD et al., 1995; JACKMAN & SMITH, 1996).

Os compostos fenólicos estão relacionados significativamente com o total da atividade antioxidante de várias frutas e vegetais (SANTOS et al., 2010). Eles possuem diversas aplicações na indústria, como na produção de tintas, papéis, cosméticos e aditivos (corantes naturais e conservantes). Também possuem aplicações como antibióticos e agentes antidiarréicos, antiulcerativos e antiinflamatórios, sendo utilizados no tratamento de doenças como hipertensão, fragilidade vascular, alergias, hipercolesterolemia entre outras (SINGLETON, 1981; SAITO et al., 1998).

Uma das etapas mais relevantes do processo de análise de alimentos é a extração dos compostos da matriz, pois ela deve proporcionar o maior rendimento possível dessas substâncias, além de ter como alvo a especificidade, ou seja, eliminar os compostos considerados interferentes.

No método de extração de compostos fenólicos o uso do ultra-som facilita a liberação dos compostos, auxiliando a entrada de solventes nos tecidos vegetais, principalmente nos primeiros minutos, elevando o rendimento da extração dos compostos de interesse (LEE & ROW, 2006; CHEN et al., 2007; ZHANG et al., 2009; MORELLI et AL., 2012), sendo esta uma alternativa simples, eficiente e economicamente vantajosa.

Além dos aspectos funcionais, a quantificação dos compostos fenólicos totais é de grande valor devido à ligação destes compostos com a qualidade

sensorial dos alimentos, como cor, sabor e aroma (KIM et al., 2005). Os fenólicos podem ser medidos através de vários métodos colorimétricos ou enzimáticos (BEER et al., 2003). No entanto o método colorimétrico mais utilizado é Folin-Ciocalteu, sendo o resultado expresso em equivalente de ácido gálico (FERNANDEZ- PACHÓN et al., 2004; ABDILLE, et al., 2005; BRAVO et al., 2006; DASTMALCHI et al., 2007; VAQUEIRO et al., 2007; PAIXÃO et al., 2007).

A capacidade antioxidante das antocianinas e dos compostos fenólicos totais é de grande importância, existindo várias metodologias para avaliá-las, podendo ser *in vitro* ou *in vivo* (ANTOLOVICH et al., 2002; PINELO et al., 2004).

Uma dessas metodologias *in vitro* é o ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), sendo este um ensaio de descoloração que pode ser aplicado tanto para sistemas aquosos quanto para lipofílicos. Este é um método espectrofotométrico que mede a capacidade antioxidante total de substâncias puras, misturas aquosas, bebidas, extratos de alimentos entre outros. O ABTS possui um cromóforo que ao reagir com o persulfato de potássio gera uma solução de cor azul/verde, sendo que na presença de um antioxidante sua coloração é preservada (RE et al., 1999). Outro método antioxidante *in vitro* é o FRAP, este determina a capacidade dos antioxidantes contidos em solução em reduzir ferro  $Fe^{3+}$  para a forma ferro  $Fe^{2+}$  que é complexado com TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridil)-s-triazine ( $Fe^{2+}$  - TPTZ) que possui absorvância em 593nm (BENZIE, F. & STRAIN, J. 1996).

Há também o método da co-oxidação utilizando o sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico. Ele determina a capacidade de uma amostra ou de um composto em proteger um substrato lipídico da oxidação. Baseando-se em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do  $\beta$ -caroteno induzida por produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (MARCO, 1968; MILLER, 1971; ALVES et al., 2010).

Este trabalho teve como objetivo quantificar as antocianinas e compostos fenólicos totais e a sua capacidade antioxidante *in vitro* na jabuticaba e em suas frações (casca, polpa e semente), além da sua geléia, para isto foi realizada a extração e quantificação das antocianinas e compostos fenólicos totais e a

capacidade antioxidante *in vitro* dos mesmos. Os métodos utilizados foram: extração de antocianinas e compostos fenólicos totais por agitação, quantificação das antocianinas por pH diferencial, extração dos compostos fenólicos totais por ultra-som e a quantificação dos mesmos por Folin-Ciocalteu. Foi verificada a capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos de jabuticaba, assim como os das suas frações e de sua geléia, pelos métodos antioxidantes ABTS e FRAP.

### **Referências bibliográficas:**

ABDILLE, M. D.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food Chem.* v. 891, p. 90, 2005.

ALVES, Q. C.; DAVID, M. J.; DAVID, P. J.; BHAIA, V. R.; AGUIAR, M. R. Métodos Para Determinação De Atividade Antioxidante *In Vitro* Em Substratos Orgânicos. *Res.: Química Nova*, v. XY, No. 00, p. 1-9, 2010.

ANTOLOVICH, M; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, v. 127, p. 183-198, 2002.

ASCHERI, R. P. D.; ASCHERI, R. L. J.; CARVALHO, P. W. C. Caracterização da Farinha de Jabuticaba e Propriedades Funcionais dos Extrusados. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v. 26 n. 4, p. 1-21, 2006.

BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLOM, W. C. A.; MANLEY, M. Antioxidant Activity of South African Red and White Cultivar Wines: Free Radical Scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 902-909, 2003

BENZIE, I.F.F.; E STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, v. 239(1), p. 70-76, 1996.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. ANVISA. Resolução n° 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova revisão das tabelas I, III, IV e V referente a aditivos intencionais, bem como os anexos I, II, III e VII, todas do decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1965. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 19 dez. 1988. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/04\\_cns.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/04_cns.pdf). Acesso em: 12 out. 2010.

BRAVO, M. N.; SILVA, S.; COELHO, A.; BOAS, L. V.; BRONZE, M. R. Analysis of Phenolic Compounds in Muscatel Wines Produced in Portugal. *Anal. Chim. Acta*, v. 563, p. 84-92, 2006.

BRUNINI, A. M. et al. Influência de Embalagens e Temperatura no Armazenamento de Jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba (Vell) Berg*) cv 'Sabará'. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 24(3), p. 378-383, 2004.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, p. 293, 1990.

CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry* v. 14, p. 767–778, 2007.

CORRÊA, M. O. G.; PINTO, D. D.; ONO, E. O. Análise da atividade respiratória em frutos de jabuticabeira. *Rev. Bras. Biociênc.*, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 831-833, 2007.

COSTA, C. T.; HORTON, D.; MARGOLIS, S. A.; Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.*, v. 881, p. 403, 2000.

DASTMALCHI, K.; DORMAN, H.; KOSAR, M.; HILTUNEN, R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *LWT*, v. 40, p. 239, 2007.

ESCRÍBANO-BAILÓN; TERESA, M.; SANTOS-BUELGA, C. In: Methods in polyphenol analysis. Polyphenol Extraction from Foods. The Royal Society of chemistry, p. 1-15, 2003.

FERÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; VILLAÑO, D.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Antioxint activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*, v. 513, p. 113-118, 2004.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J.; “Quantitative Methods for Antocyanins. Extraction and Determination of Antocyanin in Cranberries”, *J. Food Sci.* v. 33, p. 72, 1968a.

GOMES, R. P. *Fruticultura Brasileira*. São Paul: Nobel, p. 263-7, 1973.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th ed.; Oxford University Press: Oxford, 2007.

HALLIWELL, B.; How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Res. Commun.* v. 9, p. 1-32, 1990.

IKAN, R.; *Natural Products – A Laboratory guide*, Israel Universities Press: Jerusalem, 1969.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. (Eds.) Natural Food Colorants. 2nd ed. Londres: Chapman & Hall, p. 245-309, 1996.

KIM, D. O.; HEO, H. J.; KIM, Y. J.; YANG, H. S.; LEE, C. Y.; Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. J. Agric. Food Chem. v. 9921, p. 53, 2005.

LEE, K.J.; ROW, K.H. Enhanced extraction of isoflavones from korean soybean by ultrasonic wave. Korean Journal of Chemical Engineering v. 23 (5), p. 779–783, 2006.

LIMA, B. J. A. Caracterização Química do Fruto Jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora* Berg) e de Suas Frações. Archivos Latinos Americanos De Nutricion v. 58, n 4, p. 416 – 421, 2008.

LOPES, T. J. Adsorção de antocianinas de repolho-roxo em argila. Tese de Mestrado. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina. P. 140, 2002.

MARQUAT, L. C.; Die Fraben der Bluthen, Bohn, 1835.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. Journal of American Oil Society, v. 45, p. 594-598, 1968.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. Journal of American. Oil Society, v. 48, p. 91, 1971.

MOLNÁR-PERL, I.; FÜZFAI, Z.; Chromatographic, capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids. J. Chromatogr. v. 1073, p. 201, 2005.

PALUDO, M. C. Ação da Enzima Pectinase na Extração do Suco de Jabuticaba. TCC Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Paranaense, Nutrição. 2009.

PAIXÃO, N.; PERESTRELO, R.; MARQUES, J. C.; CÂMARA, J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and White wines. *Food Chemistry*, v. 105, p. 204-214, 2007.

PINELO, M.; MONZOCCO, L.; NUÑEZ, M.J.; NICOLI, M.C. Interaction among phenolics in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 1177-1180, 2004.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C.; Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, M. A.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, J. M.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, B. I.; KENNELLY, J. E. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *J. Nat. Prod.*, Ohio, v. 69, n. 8, p. 1228-1230, 2006.

RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T.; Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J. Chromatogr.* v. 1112, p. 31, 2006.

SILVA, F. J. G. Formulação e Estabilidade de Corantes de Antocianinas Extraídas das Cascas de Jabuticaba (*Myrciaria ssp.*). *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 21, n. 3, p. 429-436, 2010.

SANTOS, T. D.; VEGGI, C. P.; MEIRELES, A. A. M. Extraction Of Antioxidant Compounds From Jaboticaba (*Myrciaria Cauliflora*) Skins: Yiel, Composition And Economical Evaluation. V. 101, p. 23-31, 2010.

SAITO, M.; HOSOYAMA, H.; ARIGA, T.; KATAOKA, S.; YAMAJI, N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. J. Agric. Food Chem., v. 46, p. 1460-1464, 1998.

SINGLETON, V. L. Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. Adv. Food Res. v. 27, p. 149-242, 1981.

SILVA, S. P. Frutas no Brasil. São Paulo Nobel, p. 144-7, 2001.

SILVA S. R. Extração e estabilidade de pigmentos antociânicos de frutos de Maria-Pretinha (*Solanum americanum. Mili.*). Tese de Mestrado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. P. 76, 1996.

SONDHEIMER, E.; KERTSZ, Z. I.; Colorimetric Determination in Strawberries and Strawberry Products, Anal. Chem. v. 245, p. 20, 1948.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, C. P.; OLIVEIRA, A. F. Comparação de Métodos Para Quantificação de Antocianinas. revista Ceres v. 0034-737, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, A. M.; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da estrutura e função. Nutrire v. 95, p. 31, 2006.

VAQUEIRO, M. J. R; ALBERTO, M.; NADRA, M. C. M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. Food Control, v. 18, p. 93-101, 2007.

WROLSTAD, R. E.; HONG, V.; BOYLES, M. J.; DURST, R. W. Use of Anthocyanin Pigment Analysis for Detection in Fruit Juices. In: Methods to Detect Adulteration in Fruit Juice and Beverages; Nagy S.; Wade, R. L.; ed., Ag Science: Auburndale, v. I, 1995.

ZHANG, H.-F.; YANG, X.-H.; ZHAO, L.-D.; WANG, Y. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of epimedium and extraction mechanism. Innovative Food Science and Emerging Technologies v. 10, p. 54–60, 2009.



## **CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**ASPECTOS GERAIS DO FRUTO E GELÉIA DA JABUTICABA SABARÁ  
(*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg). E TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E  
QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS TOTAIS E COMPOSTOS FENÓLICOS  
TOTAIS.**

**Michelly Cristiane Paludo, Marcelo Alexandre Prado**

**Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de  
Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), CP 6121, 13083-  
862, Campinas, SP, Brasil**

**Campinas**

**2013**

13

## 1. Revisão bibliográfica

### 1.1 Jabuticaba

A jabuticabeira (*Myrciaria spp.*) é conhecida há quase cinco séculos, encontrada desde o Pará até o Rio Grande do Sul. Pertence à família *Mirtaceae*, a mesma do camu-camu, jambo e goiaba (MANICA et al., 2000). É uma planta de clima tropical e subtropical úmido, que não suporta estiagens prolongadas e geadas fortes. Prefere os solos profundos, bem drenados e ricos em matéria orgânica. Seu crescimento é lento o plantio deve ser feito na época das chuvas, por sementes ou enxertia (CHIARELLI et al., 2005). Existem várias espécies, uma das mais conhecidas é a *Myrciaria cauliflora* (DC). Berg, popularmente denominada jabuticaba paulista. Além desta há ainda a *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg, conhecida como jabuticaba Sabará, *myrciaria jabuticaba*, *jabuticaba murta*, *paulista- Açú* (MANICA et al., 2000).

No estado de São Paulo o município de Casa Branca destaca-se na produção de jabuticaba, pois em seu distrito, Lagoa Branca, encontra-se uns dos maiores jabuticabais do Brasil (espécie Sabará) (FILHO, 2012). Lembrando que a Sabará ocupa uma das maiores áreas cultivadas no Brasil, apresentando crescimento médio e alta produtividade (LIMA, 2008). A produção ocorre praticamente o ano inteiro, devido às safras escalonadas, porém o auge da colheita é entre os meses de agosto a outubro (FILHO, 2012).

A jabuticabeira tem despertado grande interesse dos produtores rurais devido sua alta produtividade, rusticidade e aproveitamento dos seus frutos nas mais variadas formas (BRUNINI et al., 2004). Porém, o período de comercialização pós-colheita é curto. Estudos indicam que, em apenas dois dias após a colheita, há uma rápida alteração da aparência e do sabor causadas pela intensa perda de água e fermentação da polpa (BARROS et al., 1996). Mesmo assim o potencial econômico e de comercialização desse fruto é de grande interesse devido suas características organolépticas (MOTA et al., 2002).

As jabuticabas são bem conhecidas, por serem muito saborosas e nutritivas. Segundo a tabela brasileira de composição de alimentos, 100g da parte comestível da jabuticaba crua possui 83,6% de umidade, 58 kcal, 0,6g de proteína, 0,1g de lipídios, 15,3g de carboidratos, 2,3g de fibra alimentar, 0,4g de cinzas e 8mg de cálcio (NEPA-UNICAMP, 2006).

O trabalho realizado por Lima (2008), demonstrou que a jabuticaba Sabará íntegra pesa ao redor de 8,267g, casca 3,255g, polpa 2,705g e a semente 1,644g. Ela apresenta em matéria seca 0,92g/100g de proteína bruta, 2,23g/100g de fibra solúvel e 75,97g/100g de fibra insolúvel e 1,41g de Ác. Cítrico/100g. Lembrando que o principal componente da polpa da jabuticaba é a água com 86,72% da massa total. Estes resultados mostram que o teor de fibras da polpa desta espécie é superior ao da variedade Paulista, acerola e até mesmo ao da uva.

A jabuticaba possui casca roxa escura quase preta (Terci, 2004), rica em nutrientes como açúcares, fibras e minerais (Franco et al., 2004), são boas fontes de pigmentos naturais, apresentando-se como alternativa viável na obtenção de corantes (Silva, 2010), por possuírem altos teores de antocianinas (REYNERTSON et al., 2006). Elas também podem ser aproveitadas como mistura na produção de ração animal ou como adubo orgânico para as árvores frutíferas (CITADIN et al., 2005). Na medicina popular o chá das cascas da jabuticaba é indicado para combater diarreias e disenterias, devido aos taninos em sua composição, a película que separa a polpa da casca é muito aproveitada na medicina alternativa para o tratamento de asma e bronquite (FRANCO et al., 2004).

Oliveira et al., (2003), realizaram um estudo que demonstra que a espécie Sabará colhida nos pomares de Casa Branca –SP apresentam maior peso e firmeza (o que pode estar relacionado a maior conservação do fruto), quando comparadas a frutas colhidas em outras localidades. Estes também obtiveram maior teor de sólidos solúveis totais o que proporciona maior rendimento, conseqüentemente apresentam melhor potencial tanto para o consumo *in natura* quanto para a industrialização. No geral ela é a mais doce e apreciada, é pequena, de epicarpo fino quase preto muito saboroso, com maturação precoce

(LIMA, 2008). O fruto possui vitaminas B1, B2, C e minerais, onde se destaca o ferro, cálcio, fósforo e potássio (LEUNG & FLORES, 1961).

Quando a jabuticaba encontra-se madura, os carboidratos em maior concentração na polpa são os açúcares solúveis, o que demonstra sua potencialidade no aproveitamento industrial (MAGALHÃES et al., 1991). O estudo realizado por Lima (2008), mostra que a polpa da Sabará possui 14,13<sup>0</sup> Brix (HOBSON et al., 1993). Ressaltando que as concentrações destes sólidos constituem uma das variáveis mais relevantes para mensurar a qualidade dos frutos (LIMA, 2008). De acordo com Barros et al., (1996), uma rápida deterioração e fermentação do fruto esta associada ao excesso de açúcares no mesmo, o que reduz sua vida útil. Porém frutas mais doces têm melhor aceitação no consumo *in natura* e quando industrializadas apresentam maior rendimento.

Lima, (2008) relata que a jabuticaba apresenta geralmente de 1 a 4 sementes. Chiarelli et al., (2005) demonstram que quando realizada alguma preparação com esta fruta deve se ter cuidado para não romper as sementes, pois estas podem gerar sabor e odor indesejáveis nas preparações.

Quando se utiliza a jabuticaba na fabricação de suco, bebidas alcoólicas ou outra preparação que gere bagaço, o mesmo pode ser aproveitado como adubo orgânico e por ter alto teor em fibras, o bagaço pode ser reaproveitado em ingredientes que possam substituir parte das calorias de alimentos ricos em carboidratos, além de influenciar em vários aspectos da digestão, absorção e metabolismo. Ele também pode ser aproveitado na elaboração de farinhas pré-gelatinizadas obtidas por extrusão, destinadas ao preparo de pudins, purê pré-pronto, bolo, bolacha, macarrão e até mesmo bebidas isotônicas, entre outros (ASCHERI et al., 2006).

Sobre as antocianinas da jabuticaba, são atribuídos efeitos benéficos como, por exemplo, a atividade antioxidante, na captura dos radicais livres, sendo estes responsáveis pela proliferação das células tumorais e pelo envelhecimento precoce (LIMA, 2008; SILVA, 2010).

A casca da jabuticaba apresenta teor de antocianinas semelhantes ao da uva (750mg/100g) e superior ao encontrado no repolho roxo (175mg/100g), sendo

que ambos são geralmente utilizados como fonte comercial deste pigmento. Isso sugere a utilização desta, como fonte potencial de antocianinas. Ressaltando que é uma fonte barata e em abundância no território brasileiro (MALLACRIADA & MOTTA, 2006; LOPES et al., 2006).

As antocianinas da jabuticaba se concentram na casca o que lhe confere uma cor rocha escura (TERCI, 2004). No trabalho realizado por Santos et al., (2010), obteve-se 6,168mg cianidina-3-glicosídeo/g de amostra seca, as mesmas foram identificadas sendo estas cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo.

Além das antocianinas a jabuticaba também contém outros compostos fenólicos. Reynertson et al., (2008) investigaram o conteúdo total de compostos fenólicos desta fruta e encontraram o valor de 31,6 mg de ácido gálico/g de fruta seca. Na espécie Sabará fresca o teor de polifenóis encontrado para o fruto inteiro foi 1,75g/100g, polpa 0,07g/100g, casca 1,89g/100g (LIMA, 2008).

Silva, (2010), obteve para o extrato de jabuticaba valor de compostos fenólicos de 636,23mg de ácido gálico/100g, e 723 $\mu$ mol L<sup>-1</sup> de Trolox/g, esse resultado mostra que ela possui grandes quantidades de compostos fenólicos quando comparada com a uva, conhecida fonte destes compostos.

## 1.2 Geléia

As frutas são ótimas fontes de vitaminas e minerais, porém sua vida de prateleira é limitada, uma alternativa para aproveitar estas frutas assim como seus nutrientes é a elaboração de geléias as quais possuem uma longa vida de prateleira (OCIBISZ et al., 2007; KANSCI et al., 2003). As geléias são bem aceitas pela população mundial, comumente utilizada para acompanhar pães e biscoitos, sendo ainda empregada em recheios de bolos na confeitaria (MELLO et al., 2007).

Pelo fato deste produto se tratar de um alimento de fabricação relativamente simples, com utilização de ingredientes de baixo custo, alguns autores apontam a geléia como uma alternativa viável para o aproveitamento econômico das frutas *in natura* (ALBUQUERQUE et al., 1996; LAGO et al., 2006).

A geléia é um produto preparado com frutas, sucos ou extratos aquosos das mesmas, podendo apresentar frutas inteiras, partes ou pedaços sob várias formas, os ingredientes devem ser misturados com açúcares, com ou sem adição de água, pectina, acidulantes e outros compostos permitidos pela legislação. Esta deve ser processada até atingir consistência semi-sólida adequada e acondicionada de forma a assegurar sua conservação, ou seja, em frascos hermeticamente fechados (BRASIL, 1978).

A ANVISA classifica as geléias de frutas em: comum (quando preparadas numa proporção de 40 partes de frutas frescas, ou seu equivalente, para 60 partes de açúcar) e extra (quando preparadas numa proporção de 50 partes de frutas frescas, ou seu equivalente, para 50 partes de açúcar) (ANVISA, 1978). O produto não pode ser colorido nem aromatizado artificialmente, a consistência deve ser capaz de se manter no estado semi-sólido quando extraída de seu recipiente. O sabor deve ser doce, com leve acidez, de acordo com a fruta de origem (ANVISA, 1978). Essa definição difere do CODEX ALIMENTARIUS em alguns aspectos, visto que a quantidade mínima de fruta para ser considerada geléia deve ser 45%, e ainda há tolerância para adição de determinados corantes e anti-espumantes durante o preparo do produto (CODEX STAN 296, 2009).

Cada país e suas regiões possuem alguns tipos de frutas em abundância, as quais são utilizadas como parte importante da alimentação da população, com isto fica clara a importância do processamento destas em geléia para conferir maior durabilidade e menor desperdício e também à relevância de estudos das consequências do processamento sobre seus nutrientes (RABABAH et al., 2011).

O processamento dos alimentos geralmente é reconhecido como um dos principais fatores de degradação e alterações dos fotoquímicos, que conseqüentemente podem afetar a capacidade antioxidante dos mesmos (NICOLI et al., 1999).

Trabalhos demonstram que os principais fatores para degradação dos compostos no processamento da geléia são a temperatura de cozimento, o pH e a concentração de açúcar, pois durante a fabricação de geléias de frutas ricas em antocianinas, como cereja, ameixa e framboesa, estas foram trituradas no

cozimento para inativação das enzimas, mostrando que a degradação das antocianinas foi em grande parte devido ao tratamento térmico. A degradação térmica das antocianinas seguiu uma cinética de 1<sup>a</sup> ordem de reação, onde temperaturas mais elevadas e tempos mais longos de aquecimento causaram maior degradação (CEMEROGLU et al., 1994; RHIM et al., 2002).

Alguns estudos investigaram o efeito do processamento de frutas em geléia, Mota et al., (2006) estudaram a geléia de ameixa preta e relataram que seu processamento reduz o teor de antocianinas, compostos com potencial antioxidante, contudo o produto ainda pode ser considerado fonte destes compostos devido aos elevados teores observados. Falcão et al., (2007) relataram que o processamento, não altera significativamente a quantidade de antocianinas totais e que a temperatura de extração das antocianinas a 70°C auxilia na sua transferência para o mosto que é utilizado para a fabricação de geléia.

Dessimoni-Pinto et al., (2011), avaliaram algumas formulações de geléia de jabuticaba as quais apresentaram níveis elevados de compostos fenólicos, se comparado ao encontrado em diversas variedades de geléia de uva estudadas por Falcão et al., (2007), que variou 63,4 - 235,4mg ácido gálico/100g amostra. Os níveis de fenólicos produzidos nestas geléias foram menores do que os valores encontrados na casca de jabuticaba. Entretanto, as geléias ainda apresentavam níveis consideráveis desses compostos em comparação com os níveis de suco de uva, que continham 0,39mg.100 mL<sup>-1</sup> e 4,0 mg.100 mL<sup>-1</sup>(SCHULDT et al., 2005). Isso demonstra que a casca da jabuticaba pode ser utilizada como matéria-prima para a produção de geléia com qualidade sensorial, valor nutricional e funcional (DESSIMONI-PINTO et al., 2011)

No trabalho de Hakkinen et al., (2000) foi demonstrado que quando o morango é processado, ou seja, transformado em geléia, uma pequena porção de flavonóides são perdidos e conseqüentemente há diminuição da atividade antioxidante. Amakura et al., (2000) mostraram que compostos fenólicos totais foram preservados durante a fabricação da geléia de amora.

### 1.3 Antioxidantes

Os antioxidantes geralmente são definidos como família heterogênea de moléculas naturais, presentes em pequena quantidade, quando comparadas às biomoléculas que protegeriam (proteínas, carboidratos e lipídeos) e assim previnem ou reduzem a extensão do dano oxidativo (HALLIWEL, 1990; HALLIWEL & GUTTERIDGE, 2007).

Os compostos fenólicos contribuem significativamente com a atividade antioxidante total de muitas frutas e vegetais (LUO et al., 2002). As antocianinas também são antioxidantes e quando se encontram na circulação sanguínea, ajudam a neutralizar os radicais livres. Este efeito foi observado em tubos de ensaio, facilitando a compreensão do fato da incidência de tumores e problemas cardíacos serem menores entre consumidores de alimentos ricos em antioxidantes (TERCI, 2004; SILVA, 2010).

Atualmente há um crescente interesse na utilização de antioxidantes naturais na busca da preservação de alimentos e a proteção contra doenças que envolvem danos causados por radicais livres. A realização de vários estudos sugerem que os compostos antioxidantes possuem efeitos benéficos como agentes profiláticos e que há uma diminuição no risco de doenças cardiovasculares e alguns tipos de cânceres associados ao consumo de frutas e vegetais (GHARRAS, 2009; HIDALGO et al., 2010; XIA et al., 2010).

De acordo com Bianchi e Antunes, (1999), os antioxidantes bloqueiam a formação dos radicais livres, com isto evitam o surgimento de lesões e a perda da integridade celular e reconstroem as membranas celulares que já foram danificadas.

A eficácia dos antioxidantes de origem vegetal depende da sua estrutura e da sua concentração no alimento. A quantidade destes compostos no vegetal é influenciada por fatores genéticos, condições ambientais, grau de maturação e variedade da planta (MOURE et al., 2001).

## 1.4 Antocianinas

Observa-se o crescente interesse na utilização das antocianinas em vários segmentos industriais, nos quais se destacam as indústrias farmacêuticas, cosmética e alimentícia (TERCI, 2004). Sendo que elas podem ser utilizadas para caracterização e determinação da origem dos produtos o que auxilia na identificação de possíveis adulterações (FLAMINI et al., 2003). Também são utilizadas na área do ensino de química como indicadores de pH, pois em soluções ácidas, a antocianina é vermelha, mas com o aumento do pH a intensidade de sua cor diminui (SOARES & CAVALHEIRO, 2001; TERCI, 2004).

As possibilidades de utilização das antocianinas, principalmente na indústria de alimentos, deixam claro a importância de estudos sobre estes pigmentos, levando-se em conta a fragilidade destes compostos frente a vários fatores como pH, oxigênio, luz e presença de metais (LOPES, 2002).

Segundo Bridle & Timberlake (1997), as antocianinas fazem parte do maior grupo de pigmentos hidrossolúveis do reino vegetal, sendo uns dos pigmentos vegetais mais atraentes (GOULD & LEE, 2002). Elas são pigmentos naturais responsáveis por uma larga escala de cores presentes em vegetais, flores, frutas e produtos derivados. Sua cor é fortemente influenciada pelos grupos metoxi e glicólicos. Quanto mais grupos metoxila, mais vermelha, quanto mais hidroxilas e grupos glicólicos mais forte é a cor azul (HARBORNE, 1958).

As antocianinas possuem cromóforos (responsáveis pela absorção de energia que resulta em cores que variam de vermelhas a azuis), são encontradas nas flores de cor vermelha, azul e roxas. Quando são extraídas, apresentam-se na forma do cátion flavilium, geralmente glicosiladas, sendo as mais comuns a beta-D-glicose, beta-D-galactose e alfa-D-ramnose (RAMOS et al., 2000). Possuem polaridade relativamente alta por conterem grupos (hidroxilas, carboxilas e metoxilas) e açúcares ligados aos seus anéis aromáticos. Devido a isso elas são mais solúveis em solventes de polaridade alta (água, metanol e etanol) do que em solventes de polaridade baixa (Hexano, diclorometano, éter de petróleo e etílico). São derivadas das antocianidinas, que não possuem grupos glicosídeos sendo

que a maioria é hidroxilada nas posições 3, 5 e 7. Já nas antocianinas, uma ou mais destas hidroxilas são substituídas por açúcares. Por elas estarem ligadas a açúcares possuem maior solubilidade e estabilidade quando são comparadas com as antocianidinas (HARBORNE, 1988; HARBONE, 1994).

Uma boa alternativa para se obter coloração vermelha nos alimentos através de fontes vegetais são as antocianinas, por serem solúveis em água facilitam sua inclusão em sistemas aquosos. Segundo Ozela (2004), possuem potencial para substituir corantes artificiais como o vermelho 40, ponceau 4R, eritrosina e bordeaux S. Entretanto, seu emprego em alimentos industrializados ainda é restrito devido a instabilidade em meio aquoso com pH acima de 2, sendo essas condições normais no processamento e no armazenamento dos alimentos (FRANCIS, 1989; FALCÃO et al., 2003).

Outra grande vantagem das antocianinas é que não há limite máximo na sua aplicação nos alimentos, estando seu uso vinculado a quantidade necessária para se atingir o efeito desejado (ANVISA, 2010). Sabe-se que as antocianinas atuam como fortes antioxidantes, sendo que essas propriedades bioativas já foram demonstradas com estudos *in vitro* e *in vivo* (GALVANO et al., 2004). Elas também são potentes antioxidantes quando são comparadas com o butilato hidroxil anisol (BHA), butilato hidroxil tolueno (BHT) e o alfa tocoferol (vitamina E) os quais são considerados antioxidantes clássicos (NARAYAN et al., 1999).

Em uma recente revisão de artigos, Santos & Meireles, (2009) mostram que o consumo das antocianinas pode promover vários benefícios à saúde como redução do risco de doença cardiovascular, diabetes, câncer, efeito protetor contra danos gástricos e hepáticos, degradação do colágeno e aumento do desempenho cognitivo entre outros.

Estudos demonstram que elas são mais estáveis em meio ácido, mesmo assim pode ocorrer degradação por vários fatores, resultando em diminuição da cor, surgimento de cor amarelada e a formação de produtos insolúveis (LOPES et al., 2007). O meio ácido exerce poder de conservação sobre as antocianinas, pois os ácidos orgânicos protegem o cátion flavilium da água, ou seja, eles impedem que ocorra a hidratação assim a modização passa direto para as bases quinoidais

com isso a cor varia de vermelho a azul sem passar pela fase incolor. Outro fator muito importante é a temperatura, pois as mesmas não suportam temperaturas elevadas, mesmo sobre a proteção do meio ácido ou estando complexadas com ácido em temperaturas elevadas ocorre à degradação (STRINGHETA, 1991).

O oxigênio é um importante fator na degradação das antocianinas. Esta degradação ocorre através de um mecanismo de oxidação direta ou indireta dos constituintes do meio que reagem com as antocianinas (JACKMAN & SMITH, 1992). Porém quando se utiliza atmosferas modificadas como gases inertes como o nitrogênio consegue-se aumentar a estabilidade das mesmas (DARAVINGAS & CAIN, 1968). Já foi comprovado que a degradação destas interfere diretamente nas medidas de compostos fenólicos e na atividade antioxidante (MALACRIDA & MOTA, 2006).

### **1.5 Métodos de extração para antocianinas**

Existem vários métodos de extração para as antocianinas, vários solventes com alto poder de extração, porém dependendo da finalidade de extração são preferíveis alguns solventes, em detrimento a outros. Para fins alimentícios é preferível o etanol pelo fato ser considerado GRAS, (geralmente reconhecido como seguro) entre outros benefícios e, neste caso é evitada a utilização da acetona e do metanol por serem tóxicos.

Para se obter uma extração eficiente deve-se otimizar a extração das antocianinas resultando em mínima degradação das mesmas, gerando um extrato com alta atividade antioxidante, utilizando tecnologia limpa e matéria prima de baixo custo (SANTOS et al., 2010).

As antocianinas são altamente solúveis em solventes polares, com isso são facilmente extraídas com água, metanol e etanol, na maioria das vezes é realizada a extração em meio ácido, para manter o cátion flavilium (LEE & HONG, 1992).

Um dos métodos mais utilizado para se adquirir o extrato bruto das antocianinas consiste em tratar a matéria prima com metanol acidificado a 1% com

HCl, porém a desvantagem de se utilizar este solvente é o HCl ser corrosivo e o metanol ser tóxico para o ser humano (LOPES et al., 2000). Algumas técnicas adotam o etanol no lugar do metanol pelo fato de ser menos tóxico. Esta técnica é fortemente recomendada especialmente quando a extração possui finalidade alimentícia. Mesmo Francis, (1982), afirmando que a extração com o metanol é mais eficiente, Silva, (1996), confirmou não haver diferença na extração realizada utilizando etanol como solvente.

Vadulga et al., (2008), verificaram que o pH é a única variável independente estatisticamente significativa no processo de extração. Sendo que o seu efeito foi negativo, significativo ( $p < 0,05$ ), mostrando que uma mudança no nível de pH estudado para valores menores, resulta em aumento da concentração das antocianinas totais.

Segundo Gómez-Plaza et al., (2006), água e etanol são preferidos quando o objetivo é obter corantes ou produtos antioxidantes para a indústria de alimentos. Com o enfoque de melhorar cada vez mais a extração de compostos como, as antocianinas, surgiram vários métodos de extração, como a extração com soxhlet, que utiliza etanol como solvente (SANTOS et al., 2010). Um dos métodos utilizados atualmente é a extração em fase sólida (SPE) que utilizam cartuchos C<sub>18</sub> e Sephadex e extração assistida por ultra-som, que utiliza o etanol como solvente, sendo que o melhor método de extração para as antocianinas da jabuticaba testado por Santos et al., (2010) foi a extração por mesa de agitação realizada a 30<sup>o</sup>C, que utiliza etanol como solvente, além de ser um método rápido (2 horas) e simples (COSTA et al., 2000; ESCRIBANO-BAILÓN et al., 2003; MOLNÁR-PERL et al., 2005; RIJKE et al., 2006; SANTOS et al., 2010).

## **1.6 Métodos de Quantificação das antocianinas**

Estudos comparativos entre alguns métodos de quantificação de antocianinas totais constataram que todos os métodos estudados são reprodutíveis e apresentam boa repetição, contudo o método fundamentado na

medida da diferença da absorbância em diferentes valores de pH é mais acessível por ter menor custo, quando comparado a outros métodos (TERCI, 2004).

É de suma importância à quantificação das antocianinas. Para extratos contendo mistura das mesmas, as medidas de absorbância realizadas em um único valor de pH são equivalentes ao total das antocianinas. Porém, esses métodos sofrem interferências, portanto não podem ser usados na presença de produtos escuros, originados da degradação de açúcares ou da própria antocianina (JACKMAN et al., 1987; JACKMAN & SMITH, 1996). Por isso, os métodos indiretos subtrativos ou diferenciais são uma boa opção para a determinação da concentração deste composto (WROLSTAD, 1976).

Os métodos espectrofotométricos utilizados para quantificação das antocianinas em frutas apresentam bom desempenho, rapidez, baixo custo, além de não necessitarem do uso de padrões (WROLSTAD et al., 1995).

O método do pH diferencial foi introduzido por FULEKI & FRANCIS, (1968a e 1968b) e melhorado por Sondheimer & Kertsz (1948), segundo Wrolstad et al., (1995) este método permite exatidão e rapidez nas medidas de determinação de antocianinas totais (WROLSTAD et al., 1995; JACKMAN & SMITH, 1996).

A cianidina-3-glicosídeo é utilizada como forma de expressão dos resultados para o método do pH diferencial, devido à presença desta em praticamente todas as frutas vermelhas (FULEKI & FRANCIS, 1968a; BROUILLARD, 1982).

Os métodos subtrativos consistem na mudança de absorbância da amostra, no comprimento de onda de máxima absorbância, após branqueamento com sulfito de sódio (JACKMAN & SMITH, 1996; FRANCIS, 1982).

No trabalho realizado por Teixeira et al., (2008), o extrato da jabuticaba apresentou diferença ( $p < 0,05$ ) entre o método do pH único e pH diferencial. Os resultados mostram que o método do pH único estimou teor inferior ao estimado pelo método de pH diferencial, o que sugere que o método do pH diferencial é melhor para a quantificação das antocianinas totais da jabuticaba.

## 1.7 Compostos fenólicos

A maior parte dos compostos fenólicos são encontrados na natureza na forma conjugada, principalmente glicosilada (MORELLI, 2012). São abrangentemente encontrados em vegetais nos quais as estruturas variam de simples moléculas (ácidos fenólicos, flavonóides) a compostos altamente polimerizados (ligninas e taninos) (SCALBERT & WILLIANSO, 2000). Nas folhas, eles possuem atividade fisiológica na prevenção a patógenos e radiação UV-B (CUSHNIE & LAMB, 2005). Estudos mostram que ocorrem diferenças entre os cultivares utilizados, assim como fatores edazoclimáticos (CALVETE et al., 2008).

Os compostos fenólicos são encontrados nas frutas, vegetais, sementes, flores e cascas, sendo alvo de constantes estudos devido suas propriedades, pois foram identificados como compostos que trazem benefícios a saúde, variando desde prevenção da cárie até ao câncer. Eles exercem estes benefícios pelo seu poder antioxidante (WOLLGAST & ANKLAN, 2000). Estudos epidemiológicos mostram uma relação entre o aumento no consumo de antioxidantes como compostos fenólicos e a diminuição no risco de doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (BRAVO, 1998).

Os extratos vegetais que possuem estes compostos são capazes de afetar o crescimento e metabolismo dos microrganismos (DIOXON & STEELE, 1999). Isso ocorre devido ao fato desses compostos inibirem a síntese dos ácidos nucléicos, função das membranas citoplasmáticas e a energia do metabolismo dos micro-organismos (CUSHNIE & LAMB, 2005).

Entre os compostos fotoquímicos, os compostos fenólicos compõem um dos grupos de constituintes mais numerosos e largamente distribuídos no reino vegetal, com mais de 8000 estruturas fenólicas conhecidas (BRAVO, 1998). Eles são em partes responsáveis pelas qualidades sensoriais e nutricionais dos alimentos vegetais. A adstringência e o amargor dos alimentos e bebidas são dependentes da concentração dos compostos fenólicos. Portanto a oxidação desses compostos no período do processamento e do armazenamento pode

ocasionar características indesejáveis aos alimentos (ACS, 1992; SHANHIDI & NACZK, 1995).

Estudos revelam que os compostos fenólicos são importantes constituintes dietéticos, devido a sua alta capacidade antioxidante, relacionada à sua habilidade em complexar íons metálicos, inativar reações radicalares em sistemas deslipidados, e prevenir a conversão de hidroperóxido em oxirradicais reativos (DIMITRIOS et al., 2006), confirmando a importância para a saúde do ser humano sendo que o seu consumo regular pode colaborar na prevenção de doenças. Sabe-se que os mesmos também são agentes redutores que em conjunto com outros agentes redutores da dieta, como vitamina C, vitamina E e os carotenóides, conseguem proteger os tecidos corporais contra o estresse oxidativo (SCALBERT E WILLIAMSON, 2000; RICE-EVANS et al., 1997). Sendo que o potencial antioxidante destes compostos exercem funções redutoras do oxigênio singlete, nas reações de oxidação lipídica e na quelação de metais (ROCKENBACH et al., 2008).

### **1.8 Métodos de extração para compostos fenólicos**

Todos os métodos de extração e seus respectivos solventes tentam obter um extrato com alta concentração de compostos fenólicos para aquisição de um produto destinado a alimentação humana e com grande valor agregado (OLIVEIRA, 2005). Eles são geralmente extraídos por solventes como água, metanol, etanol e acetona ou uma mistura desses uma vez que as moléculas glicosiladas são mais solúveis em água e as agliconas que são pouco polares, mais solúveis em solventes de baixa polaridade. A combinação de vários solventes é útil para obter a vantagem da especificidade de cada um e com isto aumentar o rendimento da extração (ESCRIBANO-BAILÓN & SANTOS-BUELGA, 2003).

Existem vários métodos de extração para os compostos fenólicos como, extração por mesa de agitação, realizada a 30<sup>0</sup>C, utiliza etanol como solvente

Santos et al., (2010), extração por soxhlet, a qual utiliza etanol como solvente (Santos et al., 2010).

Existem outros métodos de extração como o descrito por Scherer & Godoy, (2009), onde as amostras são diluídas em metanol 100% e submetidas à agitação por 180 min., em seguida são filtradas e concentradas em rota-evaporador (38<sup>o</sup>C) até secagem total.

Simões et al., (1999) sugerem a extração dividida em etapas, a qual explora a troca de solventes em cada extração de acordo com a polaridade de cada solvente. A sequência de solventes propostas se baseia em uma polaridade crescente dos mesmos. Também são conhecidas à extração líquido-líquido (LLE) ou extração sólido-líquido (SLE), para matrizes sólidas, a extração em fase sólida (SPE). O método de SPE normalmente é realizado após a LLE ou SLE (MORELLI, 2012).

O método de extração de compostos fenólicos através do ultra-som tem grande potencial de extração, pois facilita a liberação dos compostos extraíveis, aumenta o transporte contínuo dos solventes para os compostos alvos das células vegetais, principalmente nos primeiros minutos aumentando o rendimento da extração. (CHEN et al., 2007; LEE AND ROW, 2006; ZHANG et al., 2009; MORELLI, 2012). Além de ser uma alternativa simples, eficiente e economicamente vantajosa, ele promove grande liberação dos compostos fenólicos ou pelo menos, uma vez que estes estão inseridos em estruturas celulares de difícil acesso a frequência do ultra-som pode romper a membrana da célula ou da matriz facilitando assim a extração (CORRALES et al., 2009; MORELLI, 2012).

Contudo o solvente utilizado para método de extração por ultra-som é o etanol por ser menos tóxico (SANTOS et al., 2010). Além disso, ele melhora a eficiência da extração, segundo alguns autores que substituíram o metanol por etanol na análise de fenólicos (WANG, 2008; VIROT et al., 2009).

## **1.9 Métodos de Quantificação dos compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos podem ser quantificados através de vários métodos, colorimétricos ou enzimáticos (BEER et al., 2003). Eles podem ter sua concentração e perfil avaliados através das técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e eletroforese capilar (EC) (STALIKAS, 2007). Outro método para analisar o conteúdo total desses compostos é Folin-Denis, onde a redução do reagente pelos compostos fenólicos das amostras com intensa cor azul é lida espectrofotometricamente em comprimento de onda de 760nm, usando ácido tânico como padrão (DESHPANDE et al, 1986).

Porém o mais empregado é o método colorimétrico com o reagente Folin-Ciocalteu, sendo o resultado expresso em equivalente de ácido gálico (FERNANDEZ- PACHÓN et al., 2004; ABDILLE et al., 2005; BRAVO et al., 2006; DASTMALCHI et al., 2007; VAQUEIRO et al., 2007; PAIXÃO et al., 2007). Esta técnica consiste em uma mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstíco, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação possuindo cor amarela, porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis, nos quais o número de oxidação dos metais está entre cinco e seis e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras (SINGLETON et al., 1999; HUANG et al., 2005).

## **1.10 Métodos de Determinação da Capacidade Antioxidante.**

Existem vários métodos para determinar a capacidade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas, desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). As variedades de métodos colorimétricos para determinação do potencial antioxidante ocorrem devido ao fato de se tratar de substratos muito complexos, onde o conteúdo dos compostos apresentam diferentes grupos funcionais, polaridades e comportamento químico

(MORELLI, 2012). Sendo que alguns métodos determinam a habilidade dos antioxidantes em sequestrar espécies reativas geradas no meio reacional (GOULART et al., 2009).

Os métodos de determinação da capacidade antioxidante se diferenciam em relação ao mecanismo de reação, às espécies-alvo, às condições reacionais e na forma como os resultados são expressos. Mesmo com toda diversidade de métodos, ainda não existe um procedimento metodológico universal (HALLIWELL, 1995; HUANG, 2005). Isso gera a necessidade de se avaliar a capacidade antioxidante por diferentes métodos, com fundamentos e mecanismos de ação diferentes. Porém é necessário destacar que a comparação da capacidade antioxidante entre os diferentes métodos não é feita em valores absolutos, pois cada método tem sua própria escala de valores (GOULART et al., 2009).

Vários pesquisadores defendem o estudo da capacidade antioxidante total, ao invés da análise de antioxidantes isolados, pelo fato da dificuldade em medir cada antioxidante e principalmente, pela interação que existe entre eles. Este procedimento leva em consideração a ação sinérgica de todos os antioxidantes presentes; obtendo assim um parâmetro integrado (VASCONCELOS et al., 2007).

KUSKOSKI et al., (2005) mostraram forte relação entre a quantidade de compostos fenólicos, antocianinas e a ação antioxidante entre os métodos por radicais livres DPPH• e ABTS em polpas de frutas. A quantificação da atividade de um antioxidante frente a radicais livres consiste em uma das estratégias mais utilizadas para aferições *in vitro*. Nesses métodos a diminuição da cor do radical livre ocorre de maneira proporcional à quantidade de compostos fenólicos ou antocianinas na amostra (ARENA et al., 2001).

O ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)] é um método espectrofotométrico que pode ser aplicado para a quantificação de antioxidantes hidrofílicos e hidrofóbicos, soluções puras, misturas aquosas, bebidas, extratos de alimentos entre outros. Este é um método de descoloração, sendo que o ABTS possui cromóforo, e ao interagir com o persulfato de potássio gera solução de cor azul/verde, sendo que quanto maior o número de

antioxidantes presentes na amostra mais escura é a cor da reação e a cor diminui conforme a degradação dos antioxidantes presentes (RE et al., 1998).

O método FRAP é utilizado, em baixo pH geralmente pH 3,6, onde o composto antioxidante é capaz de doar um elétron ao complexo íon Ferro  $^{3+}$  - TPTZ, reduzindo-o a  $Fe^{2+}$  - TPTZ, o que gera uma coloração azul intensa, com absorvância ao redor de 593nm. Este é um ensaio que promove a redução do íon ferro por meio de doação de elétrons do composto antioxidante para esse íon, além de ser barato, de preparo simples, rápido e com alta reprodutibilidade dos resultados (BENZIE & STRAIN, 1996).

Existem outros métodos para a determinação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos e das antocianinas como o ORAC que é um método espectrofluorimétrico, *in vitro* que se baseia na captura de radicais livres formados durante a reação (ANTOLOVICH et al., 2002; SANCHES-MORENO et al., 2002; PAIXÃO et al., 2007). Há também o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) que é um radical livre estável por que não forma dímeros e polímeros, devido à possibilidade de deslocamento de seus elétrons na molécula. Esse deslocamento confere a ele uma intensa coloração púrpura, com absorção em comprimento de onda ao redor de 520 nm (SZABO et al., 2007).

Outro procedimento para determinação da capacidade antioxidante é o  $\beta$ -caroteno que determina a capacidade de uma amostra ou de um composto em proteger um substrato lipídico da oxidação, ou seja, avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. Baseando-se em medidas espectrofotométricas da descoloração do  $\beta$ -caroteno induzido por produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico, ou seja, ocorre co-oxidação (MARCO, 1968; MILLER, 1971; ALVES et al., 2010).

Como pode ser visto, frente aos inúmeros benefícios decorrentes do consumo dos compostos fenólicos totais, antocianinas totais e compostos antioxidantes, além do grande número de métodos para determiná-los e principalmente quantificá-los, fica claro que a determinação e quantificação destes se trata de um trabalho incessante que visa encontrar fatores que possam

melhorar cada vez mais estes métodos, além de melhorar a saúde, assim como a qualidade de vida das pessoas.

### **1.10 Referências Bibliográficas**

ABDILLE, M. D.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food Chem.* v. 891, p. 90, 2005.

ALBUQUERQUE, J. P.; NACCO, R.; FARO, A. Avaliação global de geleias de uva por meio do método de dados difusos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 16, p. 250-254, 1996.

ALVES, Q. C.; DAVID, M. J.; DAVID, P. J.; BHAIA, V. R.; AGUIAR, M. R. Métodos Para Determinação De Atividade Antioxidante *In Vitro* Em Substratos Orgânicos. *Res.: Química Nova*, v. XY, No. 00, p. 1-9, 2010.

AMAKURA Y.; UMINO Y.; TSUJI S AND TONOGAI Y, Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J Agric Food Chem* v. 48, p. 6292–6297, 2000.

ANTOLOVICH, M; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, v. 127, p. 183-198, 2002.

ANVISA. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Gerência-Geral Alimentos. Resolução -CNNPA nº 12, de 1978, D.O. de 24/07/1978. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_78.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf). Acessado em: 12/12.

ARENA, E.; FALLICO, B.; MACCARONE, E. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. *Food Chem.*, v. 74, p. 423-427, 2001.

ASCHERI, R. P. D.; ASCHERI, R. L. J.; CARVALHO, P. W. C. Caracterização da Farinha de Jabuticaba e Propriedades Funcionais dos Extrusados. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v. 26, n. 4, p. 1-21, 2006.

ACS, I: analysis, occurrence and chemistry. ACS Symposium Series 506. Washington, DC. Am. Chem. Soc., 1992.

BARROS, R. S.; FINGER, F. L.; MAGALHAES, M. M. Changes in monstructural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jabuticaba*. *Scientia horticulturae*, v. 16, p. 209-215, 1996.

BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLUM, W. C. A.; MANLEY, M. Antioxidant Activity of South African Red and White Cultivar Wines: Free Radical Scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 902-909, 2003

BENZIE, I.F.F.; E STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, v. 239(1), p. 70-76, 1996.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. *Revista de Nutrição, Campinas*, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria N<sup>o</sup> 204, de 4 de maio de 1978. Define termos sobre geléia de frutas. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, n.15-E, 1978.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BRAVO, M. N.; SILVA, S.; COELHO, A.; BOAS, L. V.; BRONZE, M. R. Analysis of Phenolic Compounds in Muscatel Wines Produced in Portugal. *Anal. Chim. Acta*, v. 563, p. 84-92, 2006.

BRUNINI, A. M. Influência de Embalagens e Temperatura no Armazenamento de Jaboticabas (*Myrciaria jaboticaba (Vell) Berg*) cv 'Sabará'1. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 24(3), p. 378-383, 2004.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. *Food Chemistry*, v.58, n.1-2, p.103-109, 1997.

BROUILLARD, R. Em Anthocyanins as food colors; Markakis, P., ed.; Academic Press: New York, cap. 1, 1982.

CALVETE, O. E.; et al. Fenologia, Produção e Teor de Antocianinas de Cultivares de Morangueiro em Ambiente Protegido. *Ver. Bras. Frutic.*, Jaboticabal – SP, v. 30, n. 2, p. 396-401, 2008.

CEMEROGLU B, VELIOGLU S, ISIK S. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *J Food Sci* v. 59, p. 1216–8, 1994.

CHIARELLI, C. H. R.; NOGUEIRA, P. M. A.; FILHO, V. G. W. Fermentados de Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora Berg*): Processos de Produção, Características e Rendimento. Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP. Botucatu, SP. v. 8, n. 4, p. 277-282, 2005.

CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and

identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry* v. 14, p. 767–778, 2007.

CITADIN, I. et al. Qualidade de Frutos de Jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora*) Sob Influencia de Duas Condições de Cultivo: Sombreamento Natural e Pleno Sol. Nota Técnica. , CEFET-PR – Unidade do sudoeste – Campus Pato Branco. v. 11, n. 3, p. 373-375, 2005.

CODEX STAN 296. Codex Standard for Jam, Jellies and Marmalades. Codex Alimentarius Commission, FAO/WHO. Available in: [http://www.Codexalimentarius.net/search/advancedsearch.do/download/standards/11254/CXS\\_296e.pdf](http://www.Codexalimentarius.net/search/advancedsearch.do/download/standards/11254/CXS_296e.pdf) . Acesso em: 12/12.

CORRALES, M.; GARCIA, A.F.; BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering* v. 90 (4), p. 415–421, 2009.

COSTA, C. T.; HORTON, D.; MARGOLIS, S. A.; Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.*, v. 881, p. 403, 2000.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Review Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 26, p. 394-356, 2005.

DARAVINGAS, G.; CAIN, R.F. Thermal degradation of Black raspberry anthocyanin pigments in model system, *Journal of Food Science*, v. 33, p. 138-142, 1968.

DASTMALCHI, K.; DORMAN, H.; KOSAR, M.; HILTUNEN, R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. LWT, v. 40, p. 239, 2007.

DAVID, M. J.; ALVES, Q. C.; DAVID, P. J.; BAHIA, V. M.; Rosane M. Aguiar. Métodos Para Determinação De Atividade Antioxidante *in vitro* em Substratos Orgânicos. Química Nova v. XY, no. 00, p. 1-9, 2010.

DESHPANDE, SS.; CHERYAN M & SALUNKE DK. Tannin analysis of food products. Critical reviews in Food science and nutrition. v. 24, p. 401-449, 1986.

DESSIMONI-PINTO, V. A.; N; MOREIRA, A. W. CARDOSO, M., L; PANTOJA, A., L. Jaboticaba peel for jelly preparation. an alternative technology Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 31, p. 864-869, 2011.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science & Technology, Cambridge, v. 17, p. 505–512, 2006.

DIOXON, R. A.; STEELE, C. L. Flavonoids and isoflavonoids – a gold mine for metabolic engineering. Trends in plant science reviews, v. 4, n. 10, 1999.

ESCRÍBANO-BAILÓN, M. T.; SANTOS-BUELGA, C. In: Methods in polyphenol analysis. Polyphenol Extraction from Foods. The Royal Society of chemistry, p. 1-15, 2003.

FALCÃO, L. D.; BARROS, M. D.; GAUCHE, C.; LUIZ, B. T. M. Copigmentação intra e intermolecular de antocianinas: uma revisão. Boletim do CEPPA, v. 21, n. 2, p. 351-366, 2003.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; FALCÃO, L. D.; BORDIGNON – LUIZ, M. T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade

antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v 27, n.3, p 637-642, 2007.

FERÁÑDEZ-PACHÓN, M. S.; VILLAÑO, D.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Antioxint activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*, v. 513, p. 113-118, 2004.

FILHO, L. A. Jabuticaba em Casa Branca. Arquivo Documento Histórico / Arquivo Documento Municipal – Prefeitura Municipal de Casa Branca, Museu Histórico Pedagógico “Alfredo e Afonso de Taunay”. <http://casabranca.sp.gov.br/ftp/museu/JabuticabaCasaBranca.pdf> acessado em 01/03/2012.

FLAMINI, R. Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part I: Polyphenols. *Mass Spectrometry Reviews*, v. 22, p. 218-250, 2003.

FRANCIS FJ Analysis of anthocyanins in foods. In: Markakis P, *Anthocyanins as Food Colors*. New York, Academic Press, p. 181-207, 1982.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. *Critical Review of Food Science and Nutrition*, v. 28, p. 273-314, 1989.

FRANCO, L. L. As incríveis 50 frutas com poderes medicinais. 4. ed. Curitiba: Lobo Franco, p. 191, 2004.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J.; “Quantitative Methods for Antocyanins. Extraction and Determination of Antocyanin in Cranberries”, *J. Food Sci.* v. 33, p. 72, 1968a.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J.; “Quantitative Methocyanins. Determination of Total Anthocyanin and Index degradation for Cranberries Juices”, *J. Food Sci.* v. 33, p. 78, 1968b.

GALVANO, F.; LA FAUCI, L.; LAZZARINO, G.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A.; CIAPPELLANO, S.; BATTISTINI, N.C.; TAVAZZI, B.; GALVANO, G. Cyanidins: metabolism and biological properties. *The Journal of Nutritional Biochemistry* v. 15 (1), p. 2–11, 2004.

GHARRAS, H. E. polyphenol: Food Soucers, Properties and Applications – a Review. *International Journal of Food Science and Techonoly*, v. 44, p. 2512-2518, 2009.

GIUSTI, M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of Anthocyanins by UV–visible spectroscopy. In: Wrolstad, R.E. (Ed.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, New York. 2001.

GOULART, F. O. M. Fontes Vegetais Naturais de Antioxidantes. *Quim. Nova*. v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

GOULD, K.S.; LEE, D.W. *Advances in Botanical Research: Anthocyanins and Leaves*. Academic Press, London. 2002.

GÓMEZ-PLAZA, E.; MIÑANO, A.; LÓPEZ-ROCA, J. M. Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods. *Food Chemistry*, v. 97, n. 1, p. 87-94, 2006.

HARBORNE, J. B.; The chromatografhic identification of anthocyanins pigments, *J. Chromatogr.* v. 473, p. 1, 1958.

HARBORNE, J. B. *The Flavonoids: advanced in research since, Champman and Hall: New York, 5<sup>o</sup> edition, 1994.*

HARBORNE, J.B. The flavonoids: recent advances, in: Plant Pigments, Academic Press, London, p. 298–343, 1988.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem. Pharmacol.* v. 49, p. 1341, 1995.

HAKKINEN, SH; KARENLAMPI, SO; MYKKANEN HM AND TORRONEN AR. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *J Agric Food Chem.* v. 48, p. 2960–2965, 2000.

HIDALGO, M.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; PASCUAL-TERESA, S. De Flavonoid-flanoid Interaction and its Effect on Their Antioxidant Activity. *Food Chemistry*, v. 121, p. 691-696, 2010.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 1.841-1.856, 2005.

IRIS F. F.; BENZIE and J. J. STRAIN. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”; the FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* v. 239, p. 70-76, 1996.

HOBSON, GE; GRIERSON, D.; TOMATO. IN: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. *Biochemistry of fruits ripening*. London: Champman & Hall, cap. v. 13, p. 405-442, 1993.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. (Eds.) *Natural Food Colorants*. 2nd ed. Londres: Chapman & Hall, p. 245-309, 1996.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G.A.F. and HOUGHTON, J.D. Natural Food Colorants. London: Blackie Academic. p. 183-241, 1992.

JACKMAN, R. L.; YADA, R. Y.; TUNG, M. A. A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. Journal of Food Chemistry, v. 11, p. 279-308, 1987.

KANSCI, G.; KOUBALA B AND LAPE I, Effect of ripening on the composition and the suitability for jam processing of different varieties of mango (*Mangifera indica*). Afric J Biotechnol v. 2, p.301–306, 2003.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciência e Tecnologia de Alimentos; v. 25, p. 726-732, 2005.

LAGO, E. S.; GOMES,E.; SILVA, R. da. Produção de geléia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26, p. 847-852, 2006.

LEE, K.J.; ROW, K.H. Enhanced extraction of isoflavones from korean soybean by ultrasonic wave. Korean Journal of Chemical Engineering v. 23 (5), p. 779–783, 2006.

LEE, H. S.; HONG, V.; Chromatographic analysis of anthocyanina, J. Chromatogr. v. 624, p. 221, 1992.

LEUNG, W. T.; FLORES, M. Food composition table for use in Latin America. Guatemala: INCAP/ICNND, 1961.

LIMA, B. J. A. Caracterização Química do Fruto Jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora* Berg) e de Suas Frações. *Archivos Latinos Americanos De Nutricion* v. 58, n 4 p. 416 – 421, 2008.

LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Polyphenolic antioxidants from the fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (star apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v. 50, p. 1379–1382, 2002.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; Pinto, A. S. Flavonóides. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, v. 3, n.14, p. 18-22, 2000.

LOPES, T. J.; QUADRI, M. B; QUADRI, M. G. N. Estudo experimental da Adsorção de Antocianinas comercial de Repolho-roxo em argilas no processo de batelada. *Brazilian Journal of Food Techonology*, v. 9, p. 49-56, 2006.

LOPES, J. T.; XAVIER, F. M.; QUADRI, N. G. M.; QUADRI, B. M. Antocianinas: Uma Breve Revisão Das Características Estruturais e da Estabilidade. *Revista Bras. Agrocência, Pelotas*, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

MACHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. *Fruit phenolics*. Boca Raton: CRC, p. 378, 1990.

MAGALHÃES, M. M.; Desenvolvimento e carboidratos constituintes do fruto de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* Berg, cv. Sabará). Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 1991.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. *B. CEPPA, Curitiba*, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MANICA, I. Frutas nativas, silvestres e exóticas.1: Técnicas de produção e mercado: abiu, amora-preta, araçá, bacuri, biribá, carambola, cereja-do-rio-grande; jabuticaba. Porto Alegre: Cinco continentes, p. 327, 2000.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. Journal of American Oil Society, v. 45, p. 594-598, 1968.

MELLO, L. M. R. de. Viticultura Brasileira: Panorama 2007. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2008. Disponível em: [http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/panorama\\_2007\\_vitivinicultura.pdf](http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/panorama_2007_vitivinicultura.pdf) Acessado em: 12/2012.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. Journal of American Oil Society, v. 48, p. 91, 1971.

MOURE, A.; CRUZ, J.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.; PARAJÓ, J.; Natural antioxidants from residual sources Food Chem. v. 145, p. 72, 2001.

MOTA, W. F.; SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, M. C. T. Influência do Tratamento Pós-colheita com Cálcio na Conservação de Jabuticabas 1. Rev. Bras. Frutic. v. 24, p. 49, 2002.

MOTA, R.V. Caracterização físico-química de geléia de amora preta. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v 26, p 539-543, 2006.

MORELLI, L. L. L.; PRADO, M. A. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry, In Press, Corrected Proof, Available online, 28 March 2012.

MOLNÁR-PERL, I.; FÜZFAI, Z.; Chromatographic, capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids. J. Chromatogr., v. 1073, p. 201, 2005.

NARAYAN, M. S.; AKHILENDER, N. K.; RAVISHANKAR, G. A., et al. Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v. 60, n.1, p. 1-4, 1999.

NEPA-UNICAMP Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP.- Versão II. -- 2. ed. -- Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, p.113, 2006.

NICOLI, MC; ANESE, M; PARPINEL, M; Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. Trends Food Sci Technol v. 10, p. 94–100, 1999.

NIKETIC-ALEKSIC, G.; HRALDINA, G. Quantitative analysis of the antocyanin content in grape juices and wines. Lebensm. Wiss. U.Technol., [S.l.], v. 5, p. 163-165, 1972.

OCIBISZ I AND MITEK M. Antioxidant activity properties of high bush blueberry fruit cultivars. Food Sci Technol v. 10, p.34, 2007.

OLIVEIRA, L. A.; BRUNINI, A. M.; SALANDINI, R. A. C.; BAZZO, R. F. Caracterização Tecnológica de Jabuticabas 'Sabará' Provenientes de Diferentes Regiões de Cultivo. Revista brasileira de Fruticultura. v. 25, n. 3, 2003.

OLIVERA, A. M.; Extração de Polifenóis da Semente de Cacau (*Theobroma Cacao*), Florianópolis, Tese (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina. P. 72, 2005.

OZELA, E. F. Caracterização de fl avonóides e estabilidade de pigmentos de frutos de bertalha (*Basella rubra*, L.). 2004. 88 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

PAIXÃO, N.; PERESTRELO, R.; MARQUES, J. C.; CÂMARA, J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and White wines. *Food Chemistry*, v. 105, p. 204-214, 2007.

RABABAH, M. A.; TAHA, M.; AL-MAHASNEH; KILANI, I.; YANG, W.; ALHAMAD, N. M.; EREIFEJA, K. AND DATTA, M. Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. *J Sci Food Agric*, v. 91, p. 1096–1102, 2011.

RAMOS, L. A.; LUPETTI, O. K.; CAVALHEIRO, G. T. É.; FATIBELLO-FILHO, O. Utilização Do Extrato Bruto De Frutos De *Solanum Nigrum* L No Ensino De Química. *Eclética Química*, v. 25, p. 229-240, 2000.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, M. A.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, J. M.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, B. I.; KENNELLY, J. E. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria caulifl ora*). *J. Nat. Prod.*, Ohio, v. 69, n. 8, p. 1228-1230, 2006.

REYNERTSON, K.A., YANG, H., JIANG, B., BASILE, M.J., KENNELLY, E.J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry* v. 109 (4), p. 883–890, 2008.

RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T.; Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J. Chromatogr.* v. 1112, p. 31, 2006.

RICE-EVANS C. A.; MILLER N. J.; PAGANGA G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*, v. 2, p. 152-159, 1997.

RHIM J-W. Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Sci Biotechnol* v. 4, p. 11:361, 2002.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, L. G.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, M. E.; FETT, R. influencia do Solvente no Conteúdo Total de Polifenóis, Antocianinas e Atividade Antioxidante de Extratos de Bagaço de Uva (*Vitis vinifera*) Variedade Tannat e Ancelota. *Ver. Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 28 p. 238-244, 2008.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Tech. Int.* v. 121, p. 8, 2002.

SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Jabuticaba as a source of functional pigments. *Pharmacognosy Reviews* v. 3 (5), p. 127–132, 2009.

SANTOS, T. D.; VEGGI, C. P.; MEIRELES, A. A. M. Extraction Of Antioxidant Compounds From Jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora*) Skins: Yiel, Composition And Economical Evaluation. v. 101 p. 23-31, 2010.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*, v. 130, p. 2073S-2085S, 2000.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, v. 112, p. 654-658, 2009.

SCHULDZ, E. Z. Estudo de uma fração rica em compostos fenólicos provenientes de uvas da variedade bordô (*Vitis labrusca L.*), sobre o sistema cardiovascular: enfoque na aterosclerose experimental. 2005. 105 f. Tese (Doutorado em Farmacologia)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, Pa, Technomic Publishing CO, 1995.

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

SIMÕES, C. M. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 1. ed. Florianópolis: UFSC, p. 489-573, 1999.

SILVA, F. J. G. Formulação e Estabilidade de Corantes de Antocianinas Extraídas das Cascas de Jabuticaba (*Myrciaria ssp.*). *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 21, n. 3, p. 429-436, 2010.

SILVA, S. R. Extração e estabilidade de pigmentos antocianínicos de frutos de Maria-Pretinha (*Solanum americanum. Mili.*). Tese de Mestrado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. p. 76, 1996.

SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G.; Aplicação de Extratos Brutos de Quaresmeira e Azaléia e da Casca do Feijão Preto em Volumetria Ácido-base. Um Experimento de Análise Quantitativa. *Quim. Nova* v. 408, p. 24, 2001.

SONDHEIMER, E.; KERTSZ, Z. I.; Colorimetric Determination in Strawberries and Strawberry Products, *Anal. Chem.* v. 245, p. 20, 1948.

STRINGHETA, P.C.; Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora, Pal de Beauv.*), Campinas, Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UNICAMP. p. 138, 1991.

STALIKAS, C. D. Review Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, v. 30, p. 3268-3295, 2007.

SZABO, M. R.; IDITOIU, C.; CHAMBRE, D.; LUPEA, A. X. Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chemical Papers*, v. 61(3), p. 204-216, 2007.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, C. P.; OLIVEIRA, A. F. Comparação de Métodos Para Quantificação de Antocianinas. *Revista Ceres* v. 0034-737, 2008.

TERCI, L. B. D. Aplicações Analíticas e Dietéticas de Antocianinas Extraídas de Frutas. Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 2004.

VAQUEIRO, M. J. R; ALBERTO, M.; NADRA, M. C. M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, v. 18, p. 93-101, 2007.

VALDUGA, E.; LIMA, L.; PRADO, R.; PADILHA, F. F.; TREICHEL, H. Extração, Secagem por atomização e Microencapsulamento de Antocianinas do Bagaço da Uva “Isabel” (*Vitis Labrusca*). *Revista Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1568-1574, 2008.

VIROT, M.; TOMAO, V.; LE BOURVELLEC, C.; RENARD, C. M. C. G.; CHEMAT, F. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound assisted extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* v. 10, p. 15, 2009.

WANG, J.; SUN, B.; CAO, Y.; TIAN, Y.; LI, X. Optimization of ultrasounded-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, v. 106, p. 804- 810, 2008.

WOLLGAST, John; ANKLAN, Elke. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, n. 33, p. 449-459, 2000.

WROLSTAD, R. E.; HONG, V.; BOYLES, M. J.; DURST, R. W. Use of Anthocyanin Pigment Analysis for Detection in Fruit Juices. In: *Methods to Detect Adulteration in Fruit Juice and Beverages*; Nagy S.; Wade, R. L.; ed., Ag Science: Auburndale, v. I, 1995.

WROLSTAD, R. E. Colors and pigment analysis in fruit products. Corvallis: Oregon Agricultural Experimental Station, p. 17, 1976.

XIA, E.; DENG, G.; GUO, Y.; LI, H. Review: Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. mol. Sci.*, v. 11, p. 622-646, 2010.

ZHANG, H.-F., YANG, X.-H., ZHAO, L.-D., WANG, Y., Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of epimedium and extraction mechanism. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* v. 10, p. 54–60, 2009.

## **CAPÍTULO 2**

# **EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (*IN VITRO*) DAS ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DA JABUTICABA SABARÁ *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg & SUA GELEIA**

**Michelly Cristiane Paludo, Marcelo Alexandre Prado**

**Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de  
Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), CP 6121, 13083-  
862, Campinas, SP, Brasil**

**Campinas**

**2013**

## Resumo

A jabuticaba Sabará *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg é uma fruta nativa do Brasil e possui grande potencial econômico e comercial. Esta fruta é rica em compostos fenólicos e entre estes estão às antocianinas, compostos que possuem alta capacidade antioxidante, sendo extremamente benéficos à saúde. A geléia de jabuticaba possui uma vida de prateleira longa, com isso é fácil de ser comercializada, pois exige menores cuidados no transporte e armazenamento quando comparada a fruta *in natura*, que é muito perecível. Assim a geléia pode chegar aos consumidores onde a fruta não é encontrada e pode ser exportada para países onde a jabuticaba não é cultivada, além de ser uma forma de aproveitar as propriedades da fruta durante o decorrer do ano. Neste trabalho foi realizada a caracterização da fruta e de sua geléia (análises de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos, pH e sólidos solúveis totais (<sup>0</sup>Brix)), e a extração das antocianinas totais pelo método da agitação e compostos fenólicos totais pelo método do ultra-som (da jabuticaba e de suas frações casca, polpa e semente e de sua geléia). Os extratos resultantes destas extrações foram avaliados quanto ao conteúdo de antocianinas totais pelo método do pH diferencial obtendo valores expressos em Cianidina-3-glicosídeo (mg/100g) em base úmida. Para a extração por agitação os resultados obtidos para as antocianinas totais foram de 112,35mg para a jabuticaba e 1,63mg para geléia. Resultados de fenólicos totais foram obtidos pelo método de Folin-Ciocalteu e foram expressos em E.A.G. (equivalente de Ácido Gálico) (mg/g de amostra úmida). A extração por agitação revelou um resultado de 5,86mg para a jabuticaba e de 3,17mg para a geléia. Para a extração utilizando o ultra-som os resultados foram de 3,95mg e 3,78mg para a jabuticaba e a geléia, respectivamente. Para a atividade antioxidante pelo método FRAP os valores encontrados foram expressos em E.A.G. e E.T. (equivalente em trolox) (mg/g de amostra úmida). Os valores obtidos da extração por agitação foram de 8,28mg (E.A.G.) e 8,43mg (E.T.) para jabuticaba, e de 4,43mg (E.A.G.) e 4,93mg (E.T.) para geléia. Os resultados da extração utilizando ultra-som foram de 2,84mg (E.A.G.) e 12,13mg (E.T.) para jabuticaba e de 2,04mg

(ácido gálico) e 8,60mg (E.T.) para a geléia. Já para a atividade antioxidante pelo método ABTS os resultados foram expressos em E.A.G e E.T mg/g de amostra úmida. Os valores encontrados para extração por agitação para a jabuticaba foram de 0,42mg E.A.G e 0,80mg E.T. e para a geléia de 0,20mg E.A.G. e 0,38mg E.T. Para a extração por ultra-som para a jabuticaba foram encontrados os valores de 1,88mg E.A.G. e 9,08mg E.T., e para a geléia 1,45mg E.A.G. e 6,87mg E.T. Os resultados revelaram que a geléia mesmo perdendo certa porcentagem dos compostos (antocianinas, compostos fenólicos, atividade antioxidante) devido ao processamento, continua sendo fonte destes compostos.

**Palavras Chaves:** Jabuticaba, geléia de jabuticaba, antocianinas, compostos fenólicos, antioxidantes.

## **Abstract**

The jabuticaba Sabara *Myrciaria jabuticaba* (Vell) O. Berg is a native fruit from Brazil which has a great economic and commercial potential. This fruit contains a significant amount of phenolic compounds, and among those we can find anthocyanins, a plant pigment that provides a dark purple coloration, these compounds brings with them a high antioxidant capacity and are extremely beneficial to one's health, preventing cancer, cardiovascular diseases, aging before the time and other benefits. The jabuticaba's jam has a long shelf life, which makes it easier to be sold, because less caution with transportation and ware houses are required, especially when compared to the fruit itself. With that, the jam can be brought to places where the fruit cannot be found, such as further regions and other countries, and also is a method to have the fruit benefits through the whole year. In this research the characterization of the fruit and its jam was made (moisture analysis, ashes, lipids, proteins, carbohydrates, pH, and total soluble solids (<sup>o</sup>Brix)), and the extraction of total anthocyanins through the method of agitation whereas the extraction of phenolic compounds were made by the method of ultrasound (from the jabuticaba, its parts, peel, pulp and seeds and from its jam). The extracts resultants from these extractions were evaluated taking in consideration the content of total anthocyanins through the differential pH method, obtaining values expressed in Cyanidin-3-glucoside (mg/100 g) on a humid basis. In the extraction made by agitation, the results obtained for the anthocyanins were 112.35 mg for jabuticaba and 1.63 for jam. Results of total phenolics were obtained by the method of Folin-Ciocalteu and were expressed in G.A.E (gallic acid equivalence) (mg/g of humid sample). The extraction through agitation revealed a result of 5.86 mg for jabuticaba and 3.17 mg for the jam. For the extraction made using ultrasound, the results were 3.95 mg for the jabuticaba, followed by 3.78 mg for the jam. For the antioxidant activity made through the FRAP method the values found were expressed in G.A.E and T.E (Trolox equivalent) (mg/g of humid sample). The values obtained by the agitation extraction were 8.28 mg (G.A.E) and 8.43 mg (T.E) for jabuticaba, and 4.43 mg (G.A.E) and 4.93 mg (T.E) for the jam.

The results from the extraction using ultrasound were 2.84 mg (G.A.E) and 12.13 mg (T.E) for jabuticaba and 2.04 mg (gallic acid) and 8.60 mg (T.E) for the jam. As for the antioxidant activity by the ABTS method, the results were expressed in mg G.A.E and T.E / g of humid sample. The values found through the agitation extraction were 0.42 mg G.A.E and 0.80 mg T.E for the jabuticaba and 0.20 mg G.A.E and 0.38 mg T.E for the jam. For the extraction by ultrasound were obtained the values of 1.88 mg G.A.E and 9.08 mg T.E. for the jabuticaba, and 1.45 mg G.A.E and 6.87 mg T.E. for the jam. The results revealed that even with the jam losing a certain percentage of the compounds (anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity) due to processing, it continues to be a source of these compounds.

Key Words: Jabuticaba, Jabuticaba's jam, anthocyanins, phenolic compounds, antioxidants.

## 2.1 Introdução

A jabuticabeira tem origem subtropical (Mata Atlântica) e vegeta em diversos tipos de solos, além de possuir extraordinária capacidade de adaptação a diversos climas (GOMES, 1973; SILVA, 2001). Esta planta tem despertado grande interesse dos produtores rurais devido a sua alta produtividade, rusticidade e aproveitamento dos seus frutos nas mais variadas formas (BRUNINI et al., 2004).

A jabuticaba é nativa do Brasil, apresenta um período curto de maturação, identificado pela mudança de coloração do verde para o preto, o que diminui os riscos de colheita com frutos desuniformes (PALUDO, 2009). Esta possui bagas subglobosas, quando madura possuem cor negra, são lisas, contendo de 1 a 4 sementes. A casca é fina, frágil, polpa doce com leve acidez, de sabor característico e de coloração variando de branca a translúcida (ASCHERI et al., 2006; CORRÊA et al., 2007).

As cascas da jabuticaba são boas fontes de pigmentos naturais, isso se deve aos altos teores de antocianinas, que elas possuem (REYNERTSON, 2006; SILVA, 2010). Sendo que a casca da espécie Sabará apresenta maior teor de compostos fenólicos que a da variedade Paulista (LIMA, 2008). Isso demonstra que ela proporciona ao consumidor uma dieta rica em compostos bioativos (TEIXEIRA et al., 2008).

Os antioxidantes são definidos como família heterogênea de moléculas naturais, presentes em pequena quantidade, quando comparados às biomoléculas que supostamente protegeriam, assim previnem ou reduzem a extensão do dano oxidativo (HALLIWEL, 1990; HALLIWEL & GUTTERIDGE, 2007). Eles estabilizam os radicais livres, entre outras ações, doando elétrons, entretanto, permanecem estáveis mesmo com a ausência desse elétron, através do mecanismo de ressonância. Dividem-se em duas categorias básicas: sintéticos e naturais, atuando nos organismos vivos através de diferentes mecanismos, como: complexação de íons metálicos, captura de radicais livres, decomposição de peróxidos, inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de

oxigênio e nitrogênio e na modulação de vias sinalizadoras celulares (VASCONCELOS et al., 2006).

Entre os compostos antioxidantes estão as antocianinas, uns dos pigmentos naturais mais conhecidos e reconhecidos como compostos funcionais que agregam valor aos alimentos (TEXEIRA et al., 2008). Quando elas são adicionadas aos alimentos, além do poder de coloração, também previnem contra a auto-oxidação e peroxidação de lipídios em sistemas biológicos (ANVISA, 2010). As novas possibilidades de utilização das antocianinas, principalmente na indústria de alimentos, deixam clara a importância de estudos analíticos sobre estes pigmentos (LOPES, 2002).

Uma das etapas mais importantes do processo de análise de alimentos é a extração dos compostos da matriz, procurando sempre extrair de forma mais específica os compostos de interesse. Assim existem vários métodos de extração para as antocianinas os quais geralmente utilizam metanol acidificado com ácido clorídrico (Lopes, 2002), extração com o soxhlet, que utiliza etanol como solvente (Santos, 2010) extração por imersão em solvente (Silva, 1996), extração em fase sólida (SPE) que utilizam cartuchos C<sub>18</sub> e Sephadex (COSTA et al., 2000; ESCRIBANO-BAILÓN et al., 2003; MOLNÁR-PERL et al., 2005; RIJKE et al., 2006; SANTOS, 2010).

No trabalho de Santos (2010), foram realizados 4 métodos de extração para antocianinas da casca da jabuticaba sendo que o melhor método de extração foi o que utilizou mesa de agitação a 30<sup>o</sup> C e etanol como solvente. Este procedimento foi considerado rápido e simples.

A quantificação das antocianinas é necessária para determinar quanto um alimento possui da mesma, para isso são utilizados métodos quantitativos como os espectrais. Os aspectos quantitativos podem ser medidos pelas características espectrofotométricas das antocianinas, em que a quantia total destas nos extratos brutos, tem sido determinada principalmente por espectrofotometria. Isso é viável porque elas possuem uma absorção típica na região do visível, entre 490 e 550 nm (FULEKI & FRANCIS, 1968a).

O método do pH diferencial se baseia nas características espectrais, e foi introduzido por Sondheimer & Kertsz (1948). Este método permite exatidão e rapidez nas medidas de determinação das antocianinas totais. Sendo um dos métodos mais indicados para quantificar estas substâncias, pois é simples e rápido, pelo fato de não necessitar da construção de uma curva analítica. Sendo um dos métodos mais destacado na literatura (WROLSTAD et al., 1995; JACKMAN & SMITH, 1996).

Os compostos fenólicos estão relacionados significativamente com o total da atividade antioxidante de várias frutas e vegetais (SANTOS et al., 2010). Eles possuem diversas aplicações na indústria, como na produção de tintas, papéis, cosméticos e aditivos (corantes naturais e conservantes), também possuem aplicações como antibióticos e agentes anti-diarréicos, anti-ulcerativos e anti-inflamatório, sendo utilizados no tratamento de doenças como hipertensão, fragilidade vascular, alergias, hipercolesterolemia entre outras (SINGLETON 1981; SAITO et al., 1998).

No método de extração de compostos fenólicos o uso do ultra-som facilita sua liberação, auxiliando a entrada de solventes nos tecidos vegetais, principalmente nos primeiros minutos, elevando o rendimento da extração (LEE & ROW, 2006; CHEN et al., 2007; ZHANG et al., 2009), sendo esta uma alternativa simples, eficiente e economicamente vantajosa.

Além dos aspectos funcionais a quantificação dos compostos fenólicos totais é de grande importância devido à ligação destes com a qualidade sensorial dos alimentos, como cor, sabor e aroma (KIM et al., 2005). Os fenólicos podem ser medidos através de vários métodos colorimétricos ou enzimáticos (BEER et al., 2003). No entanto o método colorimétrico mais utilizado é Folin-Ciocalteu, sendo mais comum o resultado expresso em equivalente de ácido gálico (FERNANDEZ-PACHÓN et al., 2004; ABDILLE, et al., 2005; BRAVO et al., 2006; DASTMALCHI et al., 2007; VAQUEIRO et al., 2007; PAIXÃO et al., 2007).

A capacidade antioxidante das antocianinas e dos compostos fenólicos totais é de grande importância, existindo várias metodologias para avaliá-las, podendo ser *in vitro* e *in vivo* (ANTOLOLOVICH et al., 2002; PINELO et al., 2004).

Uma dessas metodologias *in vitro* é o ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), sendo este um ensaio de descoloração que pode ser aplicado tanto para sistemas aquosos quanto para lipofílicos, este é um método espectrofotométrico que mede a capacidade antioxidante total de substâncias puras, misturas aquosas, bebidas, extratos de alimentos entre outros. O ABTS possui cromóforo que ao reagir com o persulfato de potássio gera uma solução de cor azul/verde, que na presença de um antioxidante mantém sua coloração (RE et al., 1999).

Outro método antioxidante *in vitro* é o FRAP, este determina a capacidade dos antioxidantes contidos em solução em reduzir  $Fe^{3+}$  para a forma  $Fe^{2+}$  que é complexado com TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridil)-s-triazine) ( $Fe^{2+}$  - TPTZ) que possui absorvância em 593nm (BENZIE, F. & STRAIN, J. 1996). Ou seja, o  $Fe^{3+}$  se complexa com o TPTZ ( $TPTZ-Fe^{3+}$ ), e o antioxidante reduz todo o complexo para ( $TPTZ-Fe^{2+}$ ).

Este trabalho teve como objetivo extrair e avaliar o teor de antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de jabuticaba Sabará *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg e nas suas porções (casca, polpa e semente) assim como em sua geléia.

Os métodos utilizados foram; extração de antocianinas e compostos fenólicos totais por agitação, quantificação das antocianinas por pH diferencial, extração dos compostos fenólicos totais por ultra-som e a quantificação dos mesmos por Folin-Ciocalteu. Foi verificada a capacidade antioxidante *in vitro* pelos métodos antioxidantes ABTS e FRAP.

Conforme comentado anteriormente, fica clara a importância da análise dos compostos (fenólicos totais e antocianinas totais) da *M. jabuticaba* e de sua geléia, por métodos rápidos e eficientes. Através disto gerar conhecimentos úteis para a população que busca respaldo científico sobre a fruta e a geléia em questão e também para os produtores que procuram agregar valor aos seus produtos, possibilitando também maior conhecimento sobre a degradação desses compostos com o processamento e mostrando a concentração dos compostos fenólicos nas diferentes partes desta fruta.

Este trabalho também tentara revelar o teor das antocianinas e compostos fenólicos que resistem ao processo de fabricação da geléia, e qual a sua concentração na mesma, e apartir deste resultato comparar esta com a fruta *in natura*. E com isto verificar se esta pode ou não ser utilizada como fonte destes compostos, tendo em vista que a fruta tem curta durabilidade e exige vários cuidados para ser transportada e armazenada, enquanto a geléia possui durabilidade superior a um ano e requer menores cuidados para seu transporte e estocagem.

## **2.2 Materiais e Métodos**

### **2.2.1 Amostras**

As amostras da *M. jaboticaba* foram fornecidas pelo grupo de produtores rurais Faggan, localizados no interior de São Paulo no distrito de Lagoa Branca. A casca, polpa, semente e fruto íntegro da jaboticaba foram avaliados separadamente quanto ao teor de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante *in vitro*.

A geléia industrial da *M. jaboticaba* foi fornecida pela indústria Sucnati, localizada no interior de São Paulo no distrito de Lagoa Branca, sendo que esta foi fabricada com os frutos da mesma safra (colheita em setembro de 2011), plantação, espécie e fornecedor da fruta *in natura*. A geléia é composta por 50% da polpa da jaboticaba (sem adição da casca, pois a fruta passa por uma despulpadeira que separa as frações das frutas, casca, polpa e semente) e 50% açúcar, sem adição de pectina, o tempo de cozimento é variável, pois a mistura é aquecida na caldeira até esta alcançar 105°C, e obter a consistência da geléia, esta é mantida nesta temperatura ate atingir 69 °Brix, é utilizado o conservante INS 210 (ácido benzóico) na proporção 0,48 g/kg de geléia, a geléia é acondicionada em frascos de vidro com tampas de metal e lacradas ainda quente.

Todas as amostras foram analisadas em triplicata de extração e triplicata de análise. As amostras da *M. jaboticaba Sabará* integra, casca, polpa e semente

foram congeladas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , até o momento da análise. A geléia foi mantida em condições normais de armazenamento (temperatura e luz ambiente).

### **2.2.2 Extração das antocianinas e compostos fenólicos totais pelo método da agitação**

A extração por agitação seguiu o método proposto por Santos et al., (2010) com adaptações. Consiste em uma extração relativamente rápida, (2 horas), que foi realizada a  $30^{\circ}\text{C}$ , onde as jabuticabas assim como suas cascas e sua geléia foram colocadas separadamente em um erlenmeyer de 250 ml contendo etanol, 99.5% de pureza, (Dinâmica, Química Contemporânea Ltda), acidificado 1% com HCl (CHEMCO, Industria e Comércio LTDA) na razão de 10:1 (99ml de etanol e 1 ml de HCl).

As extrações foram realizadas por um agitador (MARCONI, Banho Metabólico Dubnoff, modelo MA 093) com controle de temperatura a 150 rpm por 2 horas. Após a extração, os extratos foram filtrados utilizando bomba a vácuo (Prismatec, Bombas de vácuo) com papel Whatman número 1, e acondicionado em balão volumétrico de 100 ml e armazenado na geladeira (temperatura média  $3^{\circ}\text{C}$ ) por no máximo 2 dias, pois as análises foram realizadas no dia da extração e no dia seguinte.

### **2.2.3 Quantificação das Antocianinas totais pelo método do pH diferencial**

A quantificação das antocianinas totais das amostras (extratos da *M. jabuticaba*, sua casca e sua geléia, obtidos pela extração por agitação) foram determinados pelo método do pH diferencial conforme a metodologia de Giusti & Wroslad, (2001). Este método consistiu em fazer duas diluições da amostra em dois sistemas tampão: cloreto de potássio (Synth) pH 1.0 ( $0,025\text{molL}^{-1}$ ) e acetato de sódio (Synth) pH 4,5 ( $0,4\text{molL}^{-1}$ ).

Procedimentos: Foram determinados os fatores de diluição para as amostras utilizando o Tampão Cloreto de Potássio (Synth) pH 1, até que a

absorbância da amostra no comprimento de onda máximo (520 nm), não ultrapasse 1,2. Para não exceder a capacidade tamponante da solução tampão, a amostra não ultrapassou 20% do volume total da solução.

O espectrofotômetro (PRÓ-ANÁLISE, UV-1600, Spectrophotometer) foi calibrado com o branco (água destilada) para todos os comprimentos de onda que foram utilizados (520 nm e 700 nm).

Preparou-se duas diluições das amostras, uma com Tampão Cloreto de Potássio (Synth) pH 1 e outra com Tampão Acetato de Sódio (Synth) pH 4,5. Ambas com o mesmo fator de diluição. As diluições foram deixadas estabilizando por 15 minutos, só após este período realizou-se as leituras.

Cada diluição foi lida (tampão pH 1 e tampão pH 4,5) no comprimento de onda (520 nm e 700 nm), para correção da turbidez.

As amostras não devem conter sedimentos. No entanto, alguns materiais coloidais podem estar suspensos na amostra, causando difusão da luz e turbidez. (Se a mostra apresentar muitos sedimentos é aconselhável filtrar a mesma com filtro em bomba a vácuo para eliminação dos sedimentos, as amostras em questão passaram por este processo). Esse erro foi corrigido por leituras em comprimento de onda onde não ocorre nenhuma absorbância da amostra, ou seja, em (700 nm).

A absorbância da amostra foi calculada, através da equação 1:

$$\text{Equação 1: } A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Para o calculo da concentração das antocianinas monoméricas da amostra original foi utilizada a equação 2:

$$\text{Equação 2: Antocianinas monoméricas totais (mg/100g) = } (A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100) / (\epsilon \times 1)$$

Onde A é absorbância da amostra.

PM é peso molecular da antocianina predominante na amostra, neste caso foi usado o valor da cianidina-3-glicosídeo PM= 449.2.

FD é fator diluição.

$\epsilon$  é a absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo,  $\epsilon = 26.900$ .

No calculo apresentado a cima (equação 2) o caminho óptico foi de 1 cm.

As antocianinas da amostra foram expressas em equivalente de cianidina-3-glicosídeo (mg/100g).

## **2.2.4 Extração dos compostos fenólicos pelo método do ultra-som**

A técnica escolhida foi extração por ultra-som, esse estudo seguiu a metodologia descrita no trabalho de Morelli, (2012) com adaptações. Os parâmetros utilizados foram volume do solvente, temperatura e o tempo de extração.

As amostras (10g) foram acondicionadas em erlenmeyers de 125mL, com 100mL do solvente de extração (etanol e água), e foram submetidas ao ultra-som (lavadora ultra-sônica, UNIQUE), com controle de temperatura e tempo, por diferentes tempos (0 – 30 min), temperaturas (30 – 65 graus Celsius) e concentrações de solvente (0 – 100% de etanol (Dinâmica, Química Contemporânea Ltda)). Sendo assim foram realizados 17 ensaios conforme o planejamento experimental (planejamento experimental em anexo).

Após a realização dos 17 ensaios do planejamento experimental foram identificados os pontos ótimos para cada parâmetro (solvente, temperatura e tempo de extração), através da superfície de resposta obtida pelo programa statistic 7, esse procedimento foi efetuado para cada amostra (jabuticaba, sua casca, polpa, semente assim como sua geléia).

Para a jabuticaba o ponto ótimo foi solvente a 61,32% de etanol, temperatura 30<sup>0</sup>C, tempo no ultra-som 30 min, para casca o ponto ideal foi solvente a 34,81% de etanol, temperatura 49<sup>0</sup>C, tempo no ultra-som 20 min, o melhor ponto para a polpa foi solvente a 57,15% de etanol, temperatura 50<sup>0</sup>C, tempo no ultra-som 13 min, o ponto excelente para semente foi solvente a 34,81%

de etanol, temperatura 49<sup>0</sup>C, tempo no ultra-som 20 min, o ponto exímio para a geléia foi solvente a 56,55% de etanol, temperatura 49<sup>0</sup>C, tempo no ultra-som 22 min, (tabela de valores ótimos em anexo).

Após a extração, as amostras foram retiradas do banho de ultra-som, resfriadas com água fria e filtradas a vácuo, foi utilizado filtro de papel Whatman nº 1. As soluções foram recolhidas e transferidas para balão volumétrico de 100 mL e armazenadas na geladeira (temperatura media 3<sup>0</sup>C) por no máximo 2 dias, pois as análises foram realizadas no dia da extração e no dia seguinte.

### **2.2.5 Determinação dos compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu**

O método utilizado para a determinação dos compostos fenólicos totais dos extratos (extratos da jabuticaba sua casca, polpa, semente e de sua geléia, obtidos através extração por agitação e pelo ultra-som), foi o Folin-Ciocalteu (SINGLETON, et al., 1999).

Consistiu nos seguintes passos: uma alíquota de 500 µL de amostra foi adicionada a 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu, (Dinâmica, Química Contemporânea Ltda) diluído 10X em água destilada, em tubo de ensaio. Após agitação aguardou-se 5 minutos e adicionou-se 2 mL de solução de carbonato de sódio (Synth) 7,5% (m/v), agitou-se novamente.

Os tubos foram deixados por duas horas à temperatura ambiente para reagir, após este período foi medida a absorbância, em comprimento de onda de 760 nm. Todo o procedimento foi realizado na ausência de luz. Foi utilizado ácido gálico (Vetec, Química Fina) como padrão de comparação e os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg E.A.G./g de amostra).

## 2.2.6 Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)]

O método ABTS foi realizado segundo metodologia descrita por RE. et al.,(1999), para avaliar a atividade antioxidante dos extratos da jabuticaba e de suas frações como casca, polpa, semente e sua geléia, obtidos pela extração por agitação e pelo ultra-som.

Para isso foi preparada uma solução estoque de Persulfato de Potássio (Synth)  $2,45 \text{ mmolL}^{-1}$  em água milli-Q. Também foi preparada uma solução estoque de ABTS (SIGMA-ALDRICH)  $7 \text{ mmolL}^{-1}$  diluída na solução de persulfato de potássio (Synth)  $2,45 \text{ mmolL}^{-1}$ . Deixou-se a solução estoque de ABTS (SIGMA-ALDRICH)  $7 \text{ mmolL}^{-1}$  no escuro por 12–16 h a temperatura ambiente (para ocorrer a oxidação do ABTS e formação do radical).

A solução de ABTS  $7 \text{ mmolL}^{-1}$  foi diluída com etanol (Dinâmica, Química Contemporânea Ltda), (a  $30^{\circ}\text{C}$ ), foi diluída até obter a absorbância de 0,7 em 734 nm.

Foi preparada a diluição dos extratos, o resultado deve ficar entre 20-80% de redução da absorbância do controle. Mas caso fiquem maior que 80% da redução do controle as amostras devem ser diluídas. Caso a Abs (absorbância) fosse inferior 20% da Abs do controle a amostra teria que ser concentrada.

O tubo controle foi feito a ( $30^{\circ}\text{C}$ ) com 3ml da solução de ABTS e 30  $\mu\text{L}$  de etanol (solvente de extração) no lugar de 30 $\mu\text{L}$  dos extratos da amostra.

Para 3ml de solução diluída de ABTS adiciono-se 30 $\mu\text{L}$  dos extratos ou solução dos padrões. Incubo-se por 25 min. a  $30^{\circ}\text{C}$ . Os tubos foram lidos à 734nm.

A curva de calibração foi preparada utilizando os padrões ácido gálico e trolox.

Os resultados foram obtidos através da equação 3.

A absorbância do controle é 100% do radical ABTS+•

**Equação 3:  $(\text{ABS do controle} - \text{ABS da amostra}) \times 100\% = X$**

**ABS do controle**

A capacidade antioxidante das amostras foram expressas em E.A.G (Vetec, química Fina) mg/g de amostra e E.T (Fluka, Analytical) mg/g de amostra.

### **2.2.7 Determinação da Capacidade Antioxidante pelo sistema FRAP**

O método FRAP foi utilizado para determinar a atividade antioxidante dos extratos da *M. jaboticaba* e de suas frações como casca, polpa, semente assim como de sua geléia, seguindo a metodologia descrita por (IRIS et al., 1996).

Foram realizados os seguintes passos:

Preparou-se tampão Acetato (Synth)  $300 \text{ mmolL}^{-1}$  com pH final 3,6.

Preparou-se solução de TPTZ (Fluka Analytical)  $10 \text{ mmolL}^{-1}$  em HCl (CHEMCO, Industria e Comércio LTDA)  $40 \text{ mmolL}^{-1}$ .

Preparou-se solução de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Synth)  $20 \text{ mmolL}^{-1}$  em água destilada.

Trabalhou-se com reagente FRAP recém preparado misturado na hora da reação. Utilizou-se: (10:1:1), ou seja, 25 mL tampão acetato (Synth), 2,5 mL solução TPTZ (Fluka Analytical) 2,5 mL  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Synth).

Sendo utilizado para cada tubo: 2400 $\mu\text{L}$  de reagente FRAP recém preparado; 320 $\mu\text{L}$  de amostra diluída/ diluições da curva padrão. O branco foi preparado com 2400 $\mu\text{L}$  de FRAP mais 320 $\mu\text{L}$  de água destilada.

Após misturá-los foram colocados em banho Maria (MARCONI, Banho Metabólico Dubnoff, modelo MA 093) por 15 minutos a  $37^\circ\text{C}$ , retirados do banho e esperado 4 min. para então fazer a leitura a 593nm. Foi traçada uma curva com as leituras das diluições dos padrões para comparação das amostras.

A capacidade antioxidante das amostras foram expressas em E.A.G (Vetec, Química Fina) mg/g de amostra em E.t (Fluka, Analytical) mg/g de amostra.

### 2.2.8 Determinação da Umidade

Este método seguiu a metodologia de Tocchini, (2011). Que consistiu em aquecer as cápsulas de porcelana por alguns minutos em estufa (estufa a vácuo, tecnal, modelo TE 395), a 105°C, as mesmas foram colocadas no dessecador por 30 minutos para esfriar. Pesou-se as cápsulas vazias em balança analítica (A & D, modelo HR-200). Foram pesadas de 5-10g de amostra. As cápsulas com as amostras foram colocadas na estufa (estufa a vácuo, tecnal, modelo TE 395), a 70°C por 10 horas. Após isto as mesmas foram colocadas no dessecador por 30 minutos e pesadas novamente, foi repetida a etapa anterior até atingir o peso constante.

Os resultados foram obtidos através da equação 4:

$$\text{Equação 4: \% Umidade} = \frac{(\text{peso inicial} - \text{peso final})}{\text{peso inicial}} \times 100$$

### 2.2.9 determinação de cinzas

Esta análise utilizou a metodologia de Tocchini, (2011). Usou-se cadinhos de porcelana, que foram colocados na mufla (QUIMIS, Forno Mufla) a 500-550°C por 30 minutos. Após isto foram colocados no dessecador por 30 minutos para esfriar, os mesmos foram pesados em balança analítica (A & D modelo HR-200). Pesou-se de 5-10g de amostra. As quais foram inicialmente queimadas em chapa de aquecimento (Fsatam, Brasil, modelo 501), até atingirem completa carbonização. Estas foram Colocadas na mufla (QUIMIS, Forno Mufla) a 500-550°C até completa mineralização. Após este processo foram colocadas no dessecador por 30 minutos, ao termino deste tempo os cadinhos foram pesados novamente em balança analítica (A & D modelo HR-200).

Os resultados foram encontrados através da equação 5:

$$\text{Equação 5: \%cinzas} = \frac{(\text{peso inicial} - \text{peso final}) \times 100}{\text{peso inicial}}$$

### 2.2.10 Determinação de Lipídios – Método de Bligh-Dyer

Esta análise seguiu a metodologia proposta por Tocchini, (2011), e Cecchi (2003), foram pesadas de 3,0 a 3,5g de amostra em tubo de ensaio de 70 mL com tampa guarneçada, adicionou-se 10 mL de Clorofórmio (Synth), 20 mL de metanol (ECIBRA, Reagentes analíticos) e 8 mL de água destilada. O tubo foi tampado hermeticamente, e agitado por 30 minutos em agitador rotatório (MARCONI, Agitador Tipo Wagner modelo MA 160/50/CF). Após esta etapa foram adicionadas 10 mL de clorofórmio (Synth) e 10 mL de solução de sulfato de sódio (Synth) 1,5%, então os tubos foram tampados e agitados por mais 5 minutos.

Os tubos foram centrifugados (Centrifuga Execelsa Baby II, modelo 206-R, FANEM), por 5 minutos para separação das fases. A fase superior foi sugada (metanol e água), com cuidado para não sugar também a fase de clorofórmio, em sistema ligado à trompa de vácuo com kitassato para posterior descarte conveniente. Foi filtrado rapidamente em funil pequeno usando papel filtro com 1,0g de sulfato de sódio anidro (Synth).

Foram transferidos 5,0 mL do filtrado para um béquer de 50 mL, sendo estes colocados na estufa (Estufa à Vácuo, Tecnal modelo TE 395), à 105°C até evaporação do solvente. Após esta etapa os mesmos foram colocados no dessecador por 30 minutos para esfriar, foram pesados, sendo que a etapa anterior foi repetida até ser atingindo peso constante.

Os resultados foram adquiridos através da equação 6:

$$\text{Equação 6: \% Gordura} = \frac{(100 \times \text{diferença de peso})}{\text{peso da amostra}}$$

### **2.2.11 Determinação de Nitrogênio Total (proteína total) – Método de Kjeldahl**

Este procedimento se baseou na metodologia proposta por Tognon et al., (2010). O primeiro passo para esta análise foi à digestão da amostra, onde foram utilizados tubos de Mikrokjeldahl de 100 mL identificados com a marcação da amostra, foram adicionados 200 mg de amostra em cada tubo, e colocadas 1,5g de mistura canalítica, e 3,0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Synth) concentrado, com auxílio de uma bureta.

Os tubos foram colocados no bloco digestor (TCNAL, equipamentos para laboratórios, modelo TE-40-25), para a digestão das amostras por 30 minutos a 100°C, após os 30 min a temperatura foi elevada para 350°C, permanecendo nesta até a amostra obter uma coloração verde-esmeralda (cerca de 3 a 4 horas), e deixada esfriar à temperatura ambiente.

O segundo passo foi a destilação e para tal foi adicionado 10 mL de ácido bórico (Synth) em um erlenmeyer de 250 mL. Com pipeta graduada, foram adicionadas 3 gotas de vermelho de metila (Synth) 0,1% e 3 gotas de verde bromocresol (Synth) 0,1% ao erlenmeyer.

Os erlenmeyers foram colocados na saída do destilador (TCNAL, Destilador de Nitrogênio, modelo TE-036/1), tendo o cuidado de deixar a ponta do tubo de saída completamente mergulhado no ácido bórico (Synth). O tubo com a amostra digerida foi acoplado ao destilador e, em seguida, foi adicionado um volume excessivo de NaOH (Synth) 40% ( 8 a 11 mL). A destilação foi realizada, até obter um volume de aproximadamente 100 mL no erlenmeyer.

O terceiro passo foi à titulação, onde o volume de 50 mL foi completado com a solução de HCl (CHEMCO, Industria e Comércio LTDA) 0,02 molL<sup>-1</sup> padronizada. E foi realizada a titulação, até atingir o ponto final, de coloração rósea.

Os resultados foram obtidos pela equação 7:

$$\% \text{ Nitrogênio} = \frac{V_{\text{HCl}} (\text{L}) \times (N_{\text{HCl}} \times \text{Fator de Correção}_{\text{HCl}}) \times 14 \times 100}{\text{peso (g) da amostra}}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrogênio} \times \text{fator de correção de proteína}$$

As proteínas têm em média 16% de Nitrogênio.

$$\begin{array}{r} 100 \text{ g de proteína} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 16 \text{ g de Nitrogênio} \\ X \quad \quad \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 1 \text{ g de Nitrogênio} \end{array}$$

Logo:

$$\text{g Proteína} = \text{g Nitrogênio} \times 6,25$$

### 2.2.12 Determinação de Açúcares – Método de Lane-Eynon

A determinação dos açúcares foi realizada conforme a metodologia de Tognon et al., (2010), seguindo alguns passos, o primeiro foi o preparo da amostra, ou seja, a clarificação da mesma, para isso foi pipetado 20 mL de amostra em um béquer de 150 mL e adicionado 5,0 mL de água destilada. O pH da solução foi ajustado para pH 7,0 com NaOH (ÉXODO CIENTIFICA) 0,1 molL<sup>-1</sup>. Esta solução foi transferida, quantitativamente, para um balão volumétrico de 250 mL.

A amostra foi clarificada adicionando-se 5 mL da solução de Ferrocianeto de Potássio (VETEC) 0,25 molL<sup>-1</sup> e 5 mL da solução de Acetato de Zinco (Synth) 1,0 molL<sup>-1</sup>. O volume foi completado com água destilada e homogeneizado. Este foi filtrado em papel filtro seco, recebendo o filtrado em um Erlenmeyer de 250 mL.

O segundo passo foi a hidrólise para análise dos açúcares totais, onde foi transferido 50 mL da amostra filtrada para um balão volumétrico de 100 mL, e

adiciono-se 5 mL de HCl (CHEMCO, Industria e Comércio LTDA) concentrado com o auxílio de uma bureta.

Foi colocado um termômetro dentro do balão e o mesmo foi aquecido em banho-maria (MARCONI, Banho Metabólico Dubnoff, modelo MA 093) a 68-70°C por 5 minutos a partir do momento em que a solução do balão atingiu essa temperatura. O mesmo foi resfriado e foi adicionado um pedaço de papel indicador vermelho Congo na solução. Esta foi neutralizada com solução de NaOH (Synth) 40% até o papel ficar com cor intermediária, entre o azul e o vermelho, o volume foi completado com água destilada e homogeneizado. Após este processo foi filtrado em papel filtro seco, recebendo o filtrado em um Erlenmeyer de 250 mL.

O terceiro passo consistiu na padronização do método Lane-Eynon com glicose a 1%, aonde foi preparado o Licor de Fehling, ou seja, misturou-se 50 mL de Fehling A com 50 mL de Fehling B.

A solução de glicose foi colocada em uma bureta de 50 mL.

Em um Erlenmeyer de 125 mL, foram adicionados 10 mL de Licor de Fehling, 10 mL de água destilada e 3 a 4 gotas do indicador azul de metileno (Synth) 1%.

Usando a chapa de aquecimento (Fsatam, Brasil, modelo 501), o Licor de Fehling foi aquecido até a fervura e titulado, sem agitação, até o desaparecimento da coloração azul, formando um sobrenadante incolor com precipitado vermelho tijolo.

O quarto passo foi à titulação, para isto a bureta de 50ml foi completada com a solução da amostra clarificada e hidrolisada. O erlenmeyer contendo o Licor de Fehling, foi titulado até atingir o ponto de viragem, de sobrenadante incolor com precipitado vermelho tijolo.

Os resultados foram adquiridos pela equação 8:

#### - Padronização

$V_{\text{médio padrão}} = \text{Volume médio gasto na triplicata da solução de glicose (mL)}$

$M_{\text{glicose}} = \text{Massa de glicose} = V_{\text{m\u00e9dio}} \times \text{“concentra\u00e7\u00e3o da solu\u00e7\u00e3o”}$

Logo :  $M_{\text{glicose (g)}} : V_{\text{m\u00e9dio padr\u00e3o (mL)}} \times 1\%$

10 mL Licor de Fehling reduz  $M_{\text{glicose}}$ .

Portanto: 10 mL Licor de Fehling =  $M_{\text{glicose}}$

- C\u00e1lculo massa de a\u00e7\u00facares totais

$V_{\text{m\u00e9dio amostra}} = \text{Volume m\u00e9dio gasto na triplicata da amostra (mL)}$

$$\text{Glicose (g)} = \frac{V \cdot M}{V}$$

“X” g de glicose ----- Massa de amostra usada na solu\u00e7\u00e3o (g)

“Y” g de glicose ----- 100g de amostra

“Y” = % de a\u00e7\u00facares totais.

### 2.2.13 Determina\u00e7\u00e3o do pH

Esta t\u00e9cnica utilizou a metodologia proposta por Tocchini, (2011), para isto o pHmetro (BEL engineering, modelo W3B pH METER), foi calibrado utilizando as solu\u00e7\u00f5es tamp\u00f5es pH 7 e pH 4 a temperatura ambiente.

As amostras foram dilu\u00eddas em \u00e1gua milli.Q, (5g de amostras para 10ml de \u00e1gua milli.Q) e acondicionadas em b\u00e9quer de 10ml. O eletrodo do pHmetro foi imerso no b\u00e9quer que continha a amostra e a leitura foi realizada.

## 2.2.14 Determinação do <sup>0</sup>Brix (Sólidos Solúveis Totais)

Este método seguiu a metodologia de Tocchini, (2011), onde as amostras foram filtradas com algodão, colocando apenas o líquido da mesma no prisma do refratômetro (Leica, modelo AR200, Digital Refractometer, Catalog n0. 13950000), dessa forma obtendo-se a leitura.

## 2.3 Resultados E Discussões

### 2.3.1 Análises físico-químicas

Este trabalho realizou a comparação da jabuticaba Sabará *Myrciaria jabuticaba* (Vell.) O. Berg com sua geléia, portanto foi efetuada a caracterização da fruta íntegra, casca com a polpa e de sua geléia, ou seja, foram aplicadas as análises (em triplicata de extração e triplicata de análise) de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos, pH e sólidos solúveis totais (<sup>0</sup>Brix) os resultados das mesmas estão expostos na Tabela 1 e nos gráficos 1 a 7.

Tabela 1: Caracterização da fruta, casca com a polpa e da geléia (g/100g)

Análise	Fruta (íntegra)	Casca/polpa	Geléia
<b>Umidade %</b>	81,35 <sup>A</sup> ± 0,01	80,00 <sup>B</sup> ± 0,01	10,33 <sup>C</sup> ± 0,01
<b>Cinzas %</b>	0,44 <sup>B</sup> ± 0,01	0,51 <sup>A</sup> ± 0,01	0,31 <sup>C</sup> ± 0,01
<b>Lipídios %</b>	0,08 <sup>A</sup> ± 0,01	0,06 <sup>B</sup> ± 0,01	0,05 <sup>B</sup> ± 0,01
<b>Proteína %</b>	1,12 <sup>B</sup> ± 0,01	1,39 <sup>A</sup> ± 0,08	0,55 <sup>C</sup> ± 0,05
<b>Carboidrato %</b>	9,65 <sup>C</sup> ± 0,49	12,80 <sup>B</sup> ± 0,21	71,56 <sup>A</sup> ± 1,74
<b>pH</b>	3,77 <sup>A</sup> ± 0,01	-----	3,6 <sup>B</sup> ± 0,01
<b>Grau Brix</b>	15,26 <sup>B</sup> ± 0,11	-----	74,03 <sup>A</sup> ± 0,40

Letras iguais representam médias iguais nas colunas. \*(%). Tukey p≤0,05, n=3.

### **2.3.1.2 Análise de porcentagem de umidade das amostras**

Os resultados de porcentagem para umidade foram diferentes estatisticamente entre as 3 amostras, revelando que a retirada da semente diminuiu em cerca 1,35% a umidade da fruta, e comprovando que o alto teor de açúcar na formulação da geléia realmente a deixa com baixa atividade de água diminuindo drasticamente a atividade de água na mesma, o que colabora para sua conservação.

O valor obtido para a fruta inteira (81,35%) é semelhante ao relatado na tabela brasileira de composição de alimentos onde 100g da parte comestível da jabuticaba crua possui 83,6% de umidade (NEPA-UNICAMP, 2006). O trabalho de Ascheri et al., (2006), também encontrou teor de umidade similar 83,3% nesta fruta. Lima et al., (2008), mostrou resultados de umidade parecidos para jabuticaba Sabará inteira sendo estes 79,41% fruta inteira, 84,24% casca, 84,95% polpa e 71,48% semente, expondo o alto conteúdo de água tanto no fruto inteiro como em suas frações, ressaltando que o principal componente da polpa da jabuticaba é a água com 86,72% da massa total.

A ANVISA, (1978), estabelece que o teor de umidade aceitável para geléias de frutas é no Máximo de 38%. Dessa forma a geléia aqui estudada apresentou teor de umidade de 10,33%, ou seja, dentro da faixa de segurança, o que impede o crescimento de fungos filamentosos e leveduras, desta forma sua vida de prateleira se torna mais longa.

A geléia convencional de jambolão estudada por Barcia, (2010) teve umidade de 26,95%, valor superior ao encontrado para geléia de jabuticaba. Na geléia de jabuticaba fabricada para o estudo de Dessimoni-Pinto et al., (2011) com 50 partes de fruta (80% de casca, 20% de polpa) para 50 partes de açúcar e 0,5% de pectina obteve umidade de 22,63%, outra formulação realizada foi 50 partes de fruta (50% de casca, 50% de polpa) para 50 partes de açúcar e 1% de pectina obteve umidade de 22,88%, valores superiores à geléia de jabuticaba analisada neste trabalho, possivelmente pelo fato da geléia em questão ter sido fabricada

com 50 partes de fruta (majoritariamente polpa e traços de casca) para 50 partes de açúcar sem a adição de pectina.

#### **2.3.1.3 Análise do teor de cinzas das amostras**

As amostras avaliadas neste estudo mostraram diferença significativa no teor de cinzas, sendo que a geléia teve a menor quantidade deste composto. A tabela brasileira de composição de alimentos expõe que em 100g da jabuticaba crua há 0,4g de cinzas NEPA-UNICAMP, (2006), valor praticamente igual ao encontrado neste trabalho. No trabalho de Barcia, (2010), foi encontrado valor de cinzas de 0,32% para geléias convencionais e light de jambolão o qual é bem semelhante ao valor encontrado para a geléia convencional da *M. jabuticaba* que foi de 0,31% de cinzas.

#### **2.3.1.4 Análise do nível de lipídios das amostras**

O nível de lipídios nas amostras analisadas nesta pesquisa revelaram concentração de 0,08% fruta íntegra, 0,06% casca mais polpa e 0,05% para geléia, sendo que estes valores são significativamente diferentes, mostrando que a retirada da semente diminui cerca de 0,02% no teor de lipídios quando comparada com a fruta íntegra, conseqüentemente a geléia possui o menor valor desse composto, pois na sua fabricação é utilizada apenas a polpa e mínima quantidade de casca, e como comentado acima a polpa é constituída majoritariamente por água.

Conforme a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos em 100g de jabuticaba há 0,1g de lipídios, praticamente o mesmo valor encontrado neste trabalho (NEPA-UNICAMP, 2006). Barcia, (2010), obteve em seu estudo 0,05% de lipídeos em geléia light de jambolão, o mesmo teor encontrado na geléia aqui estudada.

### **2.3.1.5 Análise da concentração de proteínas nas amostras**

A concentração de proteínas teve diferença estatística entre as 3 amostras estudadas, a geléia obteve a menor quantidade de proteínas. De acordo com a tabela brasileira de composição de alimentos em 100g da parte comestível da jabuticaba crua possui 0,6g de proteína (NEPA-UNICAMP, 2006), este valor foi menos que a metade do encontrado para jabuticaba Sabará neste trabalho. Já Lima, (2008), encontrou teor de proteínas em matéria seca de 0,92g/100g de proteína bruta, Ascheri et al., (2006), que obteve 1,0g/100g de proteínas na jabuticaba Sabará valor este semelhante ao encontrado neste trabalho.

Já a geléia light de jambolão apresenta 0,46% de proteínas, valor semelhante ao encontrado na geléia da *M. jabuticaba*. Na geléia de jabuticaba fabricada para o estudo de Dessimoni-Pinto et al., (2011) com 50 partes de fruta (80% de casca, 20% de polpa) para 50 partes de açúcar e 0,5% de pectina obteve teor de proteínas de 0,22%, outra formulação realizada foi 50 partes de fruta (50% de casca, 50% de polpa) para 50 partes de açúcar e 1% de pectina que obteve teor de proteínas de 0,19%, porém o valor de proteína encontrado na geléia de jabuticaba Sabará estudada neste trabalho apresentou mais que o dobro de proteínas. Isso pode ser explicado pela matéria prima utilizada, neste estudo foi utilizada a jabuticaba Sabará, já de Dessimoni-Pinto não identificou à espécie de jabuticaba utilizada, sendo que o teor de proteínas é bem diferentes entre estes dois trabalhos.

### **2.3.1.6 Análise da porcentagem de carboidratos das amostras**

As amostras avaliadas nesta pesquisa revelaram porcentagem de carboidratos totais com diferença significativa entre elas, mostrando que os açúcares da fruta em questão estão localizados em sua maioria na polpa com a casca, a concentração de açúcar evidentemente foi maior na geléia devido a sua formulação.

Conforme tabela brasileira de composição de alimentos em 100g de jabuticaba crua há 15,3g de carboidratos, valor superior ao encontrado neste trabalho NEPA-UNICAMP, (2006), já Ascheri et al., (2006), encontrou 11,2% de carboidrato na jabuticaba Sabará, valor similar ao mostrado neste estudo. Na pesquisa realizada por Oliveira, (2003), foi revelado teor entre 9,91% a 11,39%, ou seja, valor que compreende o encontrado no presente trabalho.

A ANVISA estipula que geléias de frutas tenham pelo menos 40 partes de frutas frescas, ou seu equivalente, para 60 partes de açúcar, os resultados mostram que a geléia avaliada nesta pesquisa esta dentro desta norma.

Barcia, (2010), encontrou 70,14% de carboidratos na geléia convencional de jambolão, valor próximo ao encontrado neste trabalho para a geléia da *M. jabuticaba*. Dessimoni-Pinto et al., (2011), pesquisou duas formulações de geléia de jabuticaba uma com 50 partes de fruta (80% de casca, 20% de polpa) para 50 partes de açúcar e 0,5% de pectina que revelou nível de carboidratos totais de 75,36%, outra formulação com 50 partes de fruta (50% de casca, 50% de polpa) para 50 partes de açúcar e 1% de pectina com concentração de açúcares totais de 75,50%, esses resultados foram levemente superiores aos encontrados para a geléia da *M. jabuticaba* analisada neste estudo.

### **2.3.1.6 Análise do pH das amostras**

As amostras avaliadas neste trabalho tiveram diferença significativa para os valores de pH, revelando que a transformação da fruta em geléia faz com que o pH diminua, sabendo que pHs considerados ácidos colaboram para preservação da geléia assim como na manutenção dos teores de antocianinas.

Comparando com outros estudos os valores de pH estão próximos aos encontrados neste trabalho, Oliveira et al. (2003), obteve pH na ordem de 2,91 a 3,72, para jabuticaba, concordando com Citadin et al., (2005) que encontrou o valor de 3,78 a 4,0, e com Lima, (2008) que obteve 3,55 de pH para a jabuticaba Sabará.

No estudo de Barcia et al., (2010), foi encontrado pH 3,6 a 3,7 em geléia convencional de jambolão, Kim, (2004) mostrou valores de pH em geléias de cerejas de 3,03 a 3,20, ameixa 2,97 a 3,02 e de framboesa 2,95 e Rababah et al., (2011), obteve os seguintes valores de pH nas geléias de morango 2,71 a 2,89, cereja 3,19 a 3,31, damasco 3,11 a 3,34, figo 3,01 a 3,27 e laranja 3,01 a 3,22, os valor de pH encontrado para a geléia analisada neste trabalho é extremamente próximo ao da geléia de Jambolão e consideravelmente maior que o pH da geléia de morango.

### **2.3.1.7 Análise de solido solúveis totais nas amostras**

O °Brix teve diferença significativa entre as amostras estudadas, sendo superior para a geléia, isso ocorre devido a composição da mesma. O valor obtido para a fruta estudada no presente trabalho concorda com o valor encontrado por Lima et al., (2008), que mostrou 14,13<sup>0</sup> Brix para jabuticaba Sabará, Oliveira et al., (2003), obteve sólidos solúveis totais entre 11,5<sup>0</sup> e 17,9<sup>0</sup> Brix, e com Citadin et al., (2005) que revelou valores entre 11,91<sup>0</sup> a 15,14<sup>0</sup> Brix para a fruta em questão. Lima et al., (2008) encontrou valor de 11,20<sup>0</sup> Brix para jabuticaba, sendo este resultado menor que o encontrado na jabuticaba Sabará analisada nesta pesquisa.

Barcia et al., (2010), encontrou 73,0<sup>0</sup> a 74,8<sup>0</sup> Brix para a geléia de Jambolão convencional, este resultado esta próximo ao encontrado na geléia estudada neste trabalho (75<sup>0</sup> Brix), Kin et al., (2004) obteve valores em geléias de cereja de 65<sup>0</sup> Brix, ameixa de 65,5<sup>0</sup> a 66<sup>0</sup> Brix e em framboesa 68<sup>0</sup> Brix valores parecidos com a geléia da jabuticaba Sabará. Esta análise confirma os valores encontrados para carboidratos totais, tanto da fruta como da geléia.

### 2.3.2 Análises das antocianinas totais das amostras

O teor de antocianinas totais foi avaliado nos extratos da *M. jaboticaba*, sua casca e em sua geléia, estes foram obtidos através da extração por agitação, sendo este considerado o melhor método para extração das antocianinas, da casca da jaboticaba, na pesquisa de SANTOS, (2010).

Tabela 2: Teor de antocianinas totais, foi expresso em equivalente de cianidina-3-glicosídeo (mg/100g), em base úmida.

<b>Amostras</b>	<b>Teores encontrados</b>
<b>Fruta</b>	112,35 <sup>b</sup> ± 3,92
<b>Casca</b>	385,20 <sup>a</sup> ± 0,55
<b>Geléia</b>	1,63 <sup>c</sup> ± 0,19

Letras iguais representam médias iguais nas linhas. \*(Eq. Cianidina-3-glicosídeo (mg/100g). Tukey  $p \leq 0,05$ ,  $n=3$ ).

Como esperado os teores de antocianinas nas amostras em questão foram diferentes estatisticamente, confirmando que as antocianinas estão na casca da fruta, conseqüentemente a amostra com a maior concentração deste composto, seguida pela fruta íntegra, pois ao preparar este extrato as antocianinas concentradas na casca se diluem na polpa e na semente as quais não possuem antocianinas na forma de cátion flavilium. A geléia obteve o menor valor de antocianinas, pois na sua formulação é utilizada a polpa e traços da casca, provavelmente se fosse utilizada maior porcentagem de casca o teor deste composto aumentaria consideravelmente.

A jaboticaba apresentou teor de antocianinas 602,41mg/100g de Cianidina-3-glicosídeo, em base seca, este resultado é superior ao encontrado no repolho roxo (175mg/100g, base seca), e semelhantes ao da uva (750mg/100g, base seca) sendo estes geralmente utilizados como fonte comercial deste pigmento. Isso sugere a utilização desta, como fonte potencial de antocianinas. Ressaltando

que é uma fonte barata e em abundância no território brasileiro (MALLACRIADA & MOTTA, 2006; LOPES et al., 2006). Reynertson (2007) utilizando o fruto inteiro e seco encontrou valores de 433 mg/100g de cianidina-3-glicosídeo e 81 mg/100g de delphinidina-3-glicosídeo, valor a baixo do encontrado para a jabuticaba aqui analisada, provavelmente devido à variação de espécie e o local de cultivo.

No trabalho realizado por Santos et al., (2010), obteve se em matéria seca da casca 616,8mg/100g de cianidina-3-glicosídeo, as mesmas foram identificadas sendo estas cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo, valor este bem inferior ao encontrado no presente estudo fazendo a estimativa para base seca que foi de 2140mg/100g de Cianidina-3-glicosídeo, isso ocorreu devido Santos (2010) ter usado solvente de extração sem acetificação, pois vários estudos mostram a eficácia do solvente acidificado para a extração das antocianinas, como foi comprovado nesta pesquisa, pois este trabalho seguiu a metodologia de Santos com adaptações, ou seja, utilizou-se solvente acidificado e o resultado comprovou a eficiência, pois foi obtido mais que o triplo no valor final de antocianinas. Leite (2010) encontrou em seu trabalho valores no pó liofilizado de casca de jabuticaba 1514,82 mg/100g de cianidina-3-glicosídeo, valor menor que o encontrado neste estudo, mas isso pode ter ocorrido devido à variação de espécie de jabuticaba, região de cultivo, grau de maturação do fruto entre outros fatores.

Os trabalhos publicados até o momento não trazem dados sobre as antocianinas contidas na geléia de jabuticaba. A pesquisa em questão avaliou o teor de antocianinas na geléia da *M. jabuticaba* obtendo resultado em base úmida de 1,63 mg/100g de Cianidina-3-glicosídeo e em base seca de 1,81 mg/100g de Cianidina-3-glicosídeo, valor extremamente inferior ao encontrado na fruta e na casca da fruta. Contudo isto se explica pelo fato dessa geléia utilizar apenas a polpa e traços da casca, pois como comentado anteriormente as antocianinas se encontram na casca, além disso também a perdas das mesmas durante o processamento da geléia pois esta é aquecida a 105<sup>0</sup>C, fator que colabora para degradação das antocianinas.

O trabalho de Rababah et al., (2011), mostrou resultados de antocianinas para geléia de morango de 6,98 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo enquanto o morango utilizado para a fabricação da mesma obteve 232,38 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo, ou seja, isso comprova que o processamento da geléia causa perdas consideráveis na concentração de antocianinas, neste caso houve perda de 96,6% (RABABAH te al., 2011). Rababah et al., (2011), também estudou a geléia de cereja qual obteve 7,01 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo enquanto a fruta apresentou 21,53 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo confirmando a perda no processamento sendo esta de 64,7%, isso também foi comprovado na geléia de damasco que continha 0,67mg/100g Cianidina-3-glicosídeo sendo que o damasco obteve 2,54 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo, dessa forma ocorreu uma perda de 73,2% após o processamento do fruto, este fato se repetiu na geléia de figo onde a concentração de antocianinas foi de 1,12 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo enquanto o figo foi de 4,15 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo mostrando uma perda de 60,2% no teor de antocianinas, esses resultados comprovam a diminuição considerável no nível de antocianinas após o processamento da geléia, porém mostram que mesmo assim uma parte considerável desses compostos permanecem na geléia mostrando que essa é uma forma prática e barata de conservação da fruta e seus compostos.

Kim (2004) analisou a geléia de ameixa revelando concentração de 7,7 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo esta comparada com a ameixa revelou uma perda de 79% no total das antocianinas após o processamento da fruta em geléia, este pesquisador também estudou a geléia de framboesa e obteve 30,4 mg/100g Cianidina-3-glicosídeo sendo que este composto sofreu um decréscimo de 11% comparado com a fruta fresca, estes resultados confirmam os obtidos por Rababah et al., (2011), mostrando que a pesar de haver perdas na fabricação da geléia esta ainda mantém uma quantia considerável do composto em questão.

A geléia analisada neste estudo mostrou valor de antocianinas superior à geléia de damasco, semelhante à geléia de figo e menor teor que as geléias de morango, cereja, ameixa e framboesa, lembrando que a geléia aqui estudada utilizou somente a polpa da *M. jaboticaba* e traços de sua casca, pois se fosse

utilizada uma porcentagem de casca o teor de antocianinas aumentaria consideravelmente.

### 2.3.3 Análises de fenólicos totais nas amostras

Os compostos fenólicos totais foram quantificados nos extratos obtidos pela extração por ultra-som (que utilizou etanol e água milli.Q como solvente de extração) e pela extração por agitação (utilizou etanol acidificado a 1% com HCL como solvente extrator), o método utilizado para a quantificação dos compostos fenólicos totais foi o Folin-Ciocalteau, os resultados para esta análise estão expostos na Tabela 3 e nos gráficos 9 a 11.

Tabela 3: Teor de fenólicos totais dos extratos obtidos pela extração com agitação e por extração com ultra-som. Equivalente de Ácido Gálico (mg/g de amostra) em base úmida.

<b>Amostra</b>	<b>Extração por Agitação</b>	<b>Extração por Ultra-som</b>
<b>Fruta</b>	5,86 <sup>Ab</sup> ± 0,08	3,95 <sup>Bc</sup> ± 0,30
<b>Casca</b>	12,20 <sup>Aa</sup> ± 0,36	10,43 <sup>Bb</sup> ± 0,21
<b>Polpa</b>	-----	0,57 <sup>d</sup> ± 0,005
<b>Semente</b>	-----	19,78 <sup>a</sup> ± 0,52
<b>Geléia</b>	3,17 <sup>Bc</sup> ± 0,08	3,78 <sup>Ac</sup> ± 0,07

Letras maiúsculas iguais representam médias iguais nas colunas e minúsculas iguais representam médias iguais nas linhas. \*(Equivalente de Ácido Gálico (mg/g de amostra)). Tukey  $p \leq 0,05$ ,  $n=3$ .

O teor de compostos fenólico totais referentes aos extratos obtidos pela extração por agitação deram diferença significativa entre as amostras (fruta, casca e geléia), a casca obteve a maior concentração desses compostos, seguida pela fruta, a geléia apresentou o menor teor dos compostos em questão, pois como

discutido anteriormente na sessão de antocianinas a maior concentração de compostos fenólicos esta localizada na casca, quando é preparado o extrato da fruta os compostos da casca se diluem na polpa e na semente, e como a geléia utiliza a polpa e apenas traços da casca na sua composição além de passar por um processamento que envolve alta temperatura, o qual causa a degradação de uma certa quantia destes compostos, isso explica o fato da geléia ter a menor concentração de compostos fenólicos quando comparada as outras amostras aqui estudadas.

Na pesquisa realizada por Reynertson et al., (2008) foi investigado o conteúdo total de compostos fenólicos da jabuticaba e foi encontrado o valor de 31,6 E.A.G mg/g de fruta seca, valor igual ao obtido no trabalho em questão que foi de aproximadamente 31,35 E.A.G mg/g de amostra seca. Já Lima (2008) mostrou valores para a espécie Sabará fresca onde o teor de polifenóis encontrado para o fruto integro foi 17,5mg/g, polpa 0,7mg/g, casca 18,9mg/g (LIMA, 2008). Estes valores foram superiores aos encontrados no presente trabalho, isso pode ter ocorrido devido a variedade do fruto, grau de maturação entre outros fatores.

Silva et al., (2010), obtiveram para o extrato de jabuticaba valor de compostos fenólicos de 6,36 E.A.G mg/g fruta fresca, resultado bem semelhante ao encontrado na pesquisa em questão que foi de 5,86 E.A.G mg/g de amostra fresca esse resultado mostra que ela possui grandes quantidades de compostos fenólicos quando comparada com a uva, conhecida fonte destes.

Dessimoni-Pinto et al., (2011) encontrou teor de compostos fenólicos para casca de jabuticaba fresca de 10,06 E.A.G mg/g de amostra fresca, valor este inferior ao encontrado para casca avaliada neste trabalho que foi de 12,20 E.A.G mg/g de amostra fresca.

O trabalho de Dessimoni-Pinto et al., (2011), também mostrou valores de compostos fenólicos totais para a geléia de jabuticaba de 2,16 E.A.G mg/g de geléia, este valor foi menor que o encontrado para a geléia de jabuticaba Sabará pesquisada neste trabalho a qual obteve 3,17 E.A.G mg/g de geléia fresca, estes resultados mostram que os compostos fenólicos mesmo após o processamento da

geléia permanecem numa concentração significativa, revelando a viabilidade da utilização deste produto como fonte de compostos fenólicos, sendo este um produto popular muito utilizado pela população em geral.

Rababah et al., (2011), estudou a concentração de compostos fenólicos totais e o efeito do processamento da geléia sobre estes, com isso mostrou teor de compostos fenólico na geléia de morango de 0,4551 E.A.G mg/g de geléia, enquanto o fruto apresentou 8,5031 E.A.G mg/g de fruta, isto mostra que o processamento da geléia causou uma perda de 93,2% do total de compostos fenólicos. Para a geléia de cereja Rababah et al., (2011), revelou valor de compostos fenólicos de 0,5231 E.A.G mg/g de geléia e para a cereja 4,512 E.A.G mg/g de fruta, expondo uma perda de 87,9% no total de compostos fenólicos após a fabricação da geléia. A geléia de damasco obteve teor de compostos fenólicos de 0,201 E.A.G mg/g de geléia, já o damasco 1,859 E.A.G mg/g de fruta, revelando uma queda na concentração de destes compostos de 72,3% após o processamento da geléia (RABABAH et al., 2011). Já a geléia de figo revelou concentração de compostos fenólicos de 0,131 E.A.G mg/g geléia, enquanto o figo mostrou teor de 1,224 E.A.G mg/g fruta, ou seja, houve uma diminuição de 76,2% no teor de compostos fenólicos (RABABAH et al., 2011). A geléia de laranja obteve teor de compostos fenólicos de 0,319 E.A.G mg/g geléia, enquanto a laranja mostrou teor de 1,390 E.A.G mg/g de fruta, expondo uma diminuição no teor destes compostos de 68,6% no total de compostos fenólicos (RABABAH et al., 2011). Todas as geléias estudadas por Rababah et al., (2011), (morango, cereja, damasco, figo e laranja) apresentaram teor de compostos fenólicos bem inferiores aos encontrados na geléia da *M. jaboticaba* analisada neste trabalho sendo o resultado para esta de 3,17 E.A.G mg/g geléia, demonstrando que em comparação as outras geléias a geléia analisada neste trabalho é uma ótima fonte de compostos fenólicos totais.

Na pesquisa realizada por Kim (2004), foi estudada a geléia de ameixa a qual apresentou teor de compostos fenólicos de 1,41 a 1,44 E.A.G mg/g de geléia e a de framboesa que revelou teor de 2,18 E.A.G mg/g de geléia, estes resultados foram inferiores aos encontrados para a geléia da *M. jaboticaba* 3,17 E.A.G mg/g

geléia, comprovando que a geléia em questão contem níveis consideráveis deste composto.

Estes resultados mostram que o processamento da geléia causa perdas na concentração de compostos fenólicos totais, devido principalmente a temperatura utilizada geralmente acima dos 100<sup>o</sup>C. Porém este produto ainda preserva teor considerável deste composto, sendo fonte dos mesmo, além de ser largamente utilizado pela população, dessa forma possibilita a ingestão quase que diária desses compostos que comprovadamente são benéficos a saúde, para seus consumidores, lembrando que este produto é de fácil e barata aquisição, possibilitando o consumo para todas as classes sociais.

Nos extratos obtidos pelo ultra-som a fruta e a geléia não tiveram diferença significativa, enquanto a casca, polpa e semente mostraram diferença estatística. A maior concentração de compostos fenólicos foi encontrada na semente, porém este é um falso positivo pelo fato da semente ser rica em taninos que apesar de fazerem parte desses compostos não trazem benefícios à saúde além de atrapalhar a elaboração dos produtos, pois possuem sabor extremamente adstringente o qual geralmente não é aceito pelos consumidores. Seguida pela casca que também é rica em antocianinas, fruta, geléia e a polpa, esta ultima apresentou o menor teor de compostos fenólicos totais isso é explicado pela composição da mesma que é basicamente constituída por água.

Como discutido para os compostos fenólicos quantificados nos extratos obtidos pela extração por agitação. Reynertson et al., (2008) encontrou valor destes compostos para jabuticaba de 31,6 E.A.G mg/g de fruta seca, valor superior ao obtido no trabalho em questão que foi de aproximadamente 15,65 E.A.G mg/g de amostra seca. Já Lima (2008) mostrou valores para a espécie Sabará fresca onde o teor de polifenóis encontrado para o fruto integro foi 17,5mg/g, polpa 0,7mg/g, casca 18,9mg/g Lima, (2008), estes valores foram superiores aos encontrados no presente trabalho, isso pode ter ocorrido devido a variedade do fruto, grau de maturação entre outros fatores. Na pesquisa realizada por Silva et al., (2010), foi mostrado para o extrato de jabuticaba valor de compostos fenólicos de 6,36 E.A.G mg/g fruta fresca, resultado superior ao

encontrado na pesquisa em questão que foi de 3,95 E.A.G mg/g de amostra fresca.

Dessimoni-Pinto et al., (2011) encontrou teor de compostos fenólicos para casca de jabuticaba fresca de 10,06 E.A.G mg/g de amostra fresca, valor este bem semelhante ao encontrado para casca avaliada neste trabalho que foi de 10,43 E.A.G mg/g de amostra fresca.

O trabalho de Dessimoni-Pinto et al., (2011), também mostrou valores de compostos fenólicos totais para a geléia de jabuticaba de 2,16 E.A.G mg/g de geléia, este valor foi menor que o encontrado para a geléia de jabuticaba Sabará pesquisada neste trabalho a qual obteve 3,78 E.A.G mg/g de geléia fresca estes resultados mostram que os compostos fenólicos mesmo após o processamento da geléia permanecem numa concentração significativa, comprovando a viabilidade da utilização deste produto como fonte destes.

Rababah et al., (2011), estudou a concentração de compostos fenólicos totais e o efeito do processamento da geléia sobre estes, em várias geléias com isso mostrou teor de compostos fenólico na geléia de morango de 0,455 E.A.G mg/g de geléia, enquanto o fruto apresentou 8,503 E.A.G mg/g de fruta, isto mostra que o processamento da geléia causou uma perda de 93,2% do total de compostos fenólicos, geléia de cereja 0,523 E.A.G mg/g de geléia e a cereja 4,512 E.A.G mg/g de fruta, expondo uma perda 87,9% no total de compostos fenólicos, geléia de damasco 0,201 E.A.G mg/kg de geléia, já o damasco 1,859 E.A.G mg/g de fruta, revelando queda de 72,3% após o processamento da geléia, geléia de figo 0,131 E.A.G mg/g geléia, enquanto o figo 1,224 E.A.G mg/g fruta, ou seja, houve uma diminuição de 76,2% no teor de compostos fenólicos, geléia de laranja 0,319 E.A.G mg/g geléia, enquanto a laranja 1,390 E.A.G mg/g de fruta, esponto uma diminuição no teor destes compostos de 68,6% no total de compostos fenólicos (RABABAH et al., 2011). Todas as geléias estudadas por Rababah et al., (2011), (morango, cereja, damasco, figo e laranja) apresentaram teor de compostos fenólicos bem inferiores aos encontrados na geléia da *M. jabuticaba* analisada neste trabalho sendo o resultado para esta de 3,78 E.A.G mg/g geléia,

demonstrando que em comparação as outras geléias a geléia analisada neste trabalho é uma excelente fonte de compostos fenólicos totais.

No estudo efetuado por Kim (2004), foi analisada a geléia de ameixa qual apresentou teor de compostos fenólicos de 1,41 a 1,44 E.A.G mg/g de geléia e a geléia de framboesa que revelou teor de 2,18 E.A.G mg/g de geléia, estes valores foram inferiores aos encontrados para a geléia da *M. jaboticaba* 3,78 E.A.G mg/g geléia, comprovando que a geléia em questão contem níveis consideráveis deste composto.

Estes resultados revelaram que fabricação da geléia causa perdas no teor de compostos fenólicos totais, principalmente devido à temperatura utilizada geralmente acima dos 100<sup>0</sup>C. Contudo, este produto ainda preserva níveis consideráveis deste composto, sendo fonte dos mesmos, além de ser abrangentemente utilizado pela população, dessa forma possibilita a ingestão quase que diária desses compostos que comprovadamente são benéficos à saúde, para seus consumidores, lembrando que este produto é de fácil e barata aquisição, possibilitando o consumo para todas as classes sociais.

Comparando os dois métodos de extração como seu todo, pois o método da extração por agitação utilizou como solvente de extração etanol acidificado a 1% com HCL, enquanto o método de extração por ultra-som utilizou como solvente de extração etanol e água milli.Q, além do tempo de extração que foi diferente para cada método.

Os resultados obtidos através destes revelaram diferença significativa, mostrando maior eficiência para a extração por agitação em relação à extração por ultra-som destes compostos na fruta e na casca, pois este método extraiu consideravelmente maior teor de compostos fenólicos totais destas amostras do que o método de extração por ultra-som.

Porém o método de extração por ultra-som se mostrou mais eficiente para extração dos compostos fenólicos da geléia, pois extraiu significativamente mais deste composto quando comparado ao método de extração por agitação. Este resultado esta relacionado ao solvente utilizado, pelo fato da geléia conter alto teor de açúcar em sua composição, ela se dilui melhor em solventes que contenham

alta porcentagem de água, assim o solvente utilizado na extração por ultra-som foi mais eficiente pelo fato de conter quase 50% de água, enquanto o solvente da extração por agitação não continha água.

### 2.3.4 Análise da atividade antioxidante das amostras pelo método FRAP

A atividade antioxidante dos extratos das amostras resultante da extração por agitação e da extração por ultra-som, foi medida utilizando o método FRAP, os resultados para esta análise estão expressos na Tabela 4 e nos gráficos 12 a 14.

Tabela 4: Atividade Antioxidante pelo método FRAP dos extratos de *M. jabuticaba* e de suas frações e geléia (mg/g de amostra de equivalente em ácido gálico e equivalente em trolox) em base úmida.

Amostra	Extração por Agitação		Extração por Ultra-som	
	Ác. Gálico	Trolox	Ác. Gálico	Trolox
<b>Fruta</b>	8,28 <sup>Ab</sup> ± 0,22	8,43 <sup>Bb</sup> ± 0,20	2,84 <sup>Bc</sup> ± 0,08	12,13 <sup>Ac</sup> ± 0,36
<b>Casca</b>	10,94 <sup>Aa</sup> ± 0,01	12,88 <sup>Ba</sup> ± 0,01	6,45 <sup>Bb</sup> ± 0,08	27,30 <sup>A</sup> ± 0,37
<b>Polpa</b>	-----	-----	0,32 <sup>e</sup> ± 0,00	1,38 <sup>e</sup> ± 0,01
<b>Semente</b>	-----	-----	12,51 <sup>a</sup> ± 0,14	52,60 <sup>a</sup> ± 0,65
<b>Geléia</b>	4,43 <sup>Ac</sup> ± 0,21	4,93 <sup>Bc</sup> ± 0,18	2,04 <sup>Bd</sup> ± 0,18	8,60 <sup>Ad</sup> ± 0,79

Letras maiúsculas iguais representam médias iguais nas colunas e minúsculas iguais representam médias iguais nas linhas. \*(mg/g de amostra de equivalente em ácido gálico e equivalente em trolox). Tukey  $p \leq 0,05$ ,  $n=3$ .

Os resultados da atividade antioxidante resultantes dos extratos obtidos através da extração por agitação mostraram diferença significativa entre as amostras, em ambos os padrões (ácido gálico e trolox), a casca teve a maior atividade antioxidante, confirmando os resultados mostrados anteriormente para antocianinas e compostos fenólicos totais os quais também tiveram maior concentração na casca. Seguida pela fruta, e a geléia que apresentou a menor atividade antioxidante estes resultados também são coerentes com os resultados

obtidos para antocianinas e compostos fenólicos totais mostrados nas Tabelas 2 e 3 respectivamente.

No trabalho de Rockenbach et al., (2008), foi mostrada a atividade antioxidante do bagaço seco das uvas Ancelota e Tannat pelo método FRAP sendo esta de 334,1 a 686,4 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, este resultado foi superior ao encontrado neste trabalho para o extrato obtido através da extração por agitação da casca da *M. jaboticaba* que revelou aproximadamente 286 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, contudo isso é explicado pelo fato das amostras serem diferentes (uva e jaboticaba).

Thaipong et al., (2006), revelou em seu estudo a atividade antioxidante da goiaba pelo método FRAP, sendo esta de 15,5 a 33,3 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, resultado este igual ao encontrado na presente pesquisa para a *M. jaboticaba* utilizando o mesmo método, que foi de aproximadamente 33,6 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, este fato é explicado por essas duas frutas pertencerem à mesma família, ou seja, a família das *myrtaceas*.

Até o momento não a publicações com a utilização do FRAP para atividade antioxidantes na geléia de jaboticaba, mas os resultados obtidos para esta comprovam que ela é fonte de antioxidantes, isso foi mostrado nos resultados pela extração por agitação quais foram 26 E.A.G  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra úmida ou 29,1 E.A.G  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, 19,73 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra úmida ou 22,02 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, estes valores foram calculados com base Tabela 4. Mostrando que este produto traz benefícios a saúde devido a seus compostos, (antocianinas, compostos fenólicos e antioxidantes), comprovadamente benéficos, na prevenção de várias doenças incluindo câncer e doenças cardiovasculares.

Os extratos resultantes da extração por ultra-som para atividade antioxidante pelo método FRAP, revelaram diferença significativa entre as amostras, sendo que a semente apresentou a maior concentração, mas como explicado para os compostos fenólicos este é um falso positivo devido aos taninos presentes em grande quantidade na mesma. A casca apresentou a segunda maior concentração destes compostos, seguida pela fruta, geléia e polpa que

apresentou a menor atividade antioxidante, isso se explica pela sua composição que é basicamente água.

Rockenbach et al., (2008), mostrou em sua pesquisa a atividade antioxidante do bagaço seco das uvas Ancelota e Tannat pelo método FRAP sendo esta de 334,1 a 686,4 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, este resultado foi semelhante ao encontrado neste trabalho para o estrato obtido através da extração por ultra-som da casca da *M. jabuticaba* que revelou aproximadamente 606,8 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, comprovando que esta é uma fonte de antioxidantes tão boa quanto a uva.

No trabalho realizado por Thaipong et al., (2006), foi revelada a atividade antioxidante da goiaba pelo método FRAP, sendo esta de 15,5 a 33,3 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, resultado este menor que o encontrado na presente pesquisa para o extrato resultante da extração por ultra-som da *M. jabuticaba* utilizando o mesmo método, que foi de aproximadamente 48,46 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, mostrando que a fruta em questão possui maior concentração de compostos antioxidantes do que a goiaba, mesmo elas pertencendo à mesma família, ou seja, a família das *myrtaceas*.

Em relação à utilização do método FRAP para avaliação da atividade antioxidante em geléia de jabuticaba até o momento não foram encontradas publicações científicas. Mas os resultados exposto para esta comprovam que ela é fonte de antioxidantes, isso foi revelado nos resultados pela extração por ultra-som quais foram 11,9 E.A.G  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra úmida ou 13,3 E.A.G  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, 34,36 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra úmida ou 38,36 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, estes resultados foram calculados com base Tabela 4. Mostrando que este produto traz benefícios a saúde devido a seus compostos, (antocianinas, compostos fenólicos e compostos antioxidantes), comprovadamente benéficos, na prevenção de varias doenças incluindo câncer e doenças cardiovasculares.

Quando se faz a comparação entre os métodos de extração como um todo (isto foi explicado na parte de compostos fenólicos), para os resultados da atividade antioxidante pelo método FRAP e para os dois padrões utilizados (ácido gálico e trolox), todas as amostram mostram diferença significativa.

Os extratos resultantes da extração por agitação demonstraram maior atividade antioxidante para o padrão ácido gálico em comparação a extração por ultra-som utilizando o mesmo padrão, isso ocorreu provavelmente porque a utilização do solvente acidificado a 1% com HCL, permitiu melhor ação do ácido gálico, enquanto o solvente etanol água não proporcionou total eficiência para este padrão.

Já para os extratos obtidos pela extração por ultra-som, foi mostrada maior atividade antioxidante para o padrão trolox quando comparado com a extração por agitação utilizando o mesmo padrão, isto provavelmente ocorreu devido ao solvente, onde o solvente etanol água utilizado na extração por ultra-som permitiu alta eficiência do padrão trolox, enquanto o solvente acidificado a 1% com HCL não colaborou para a eficácia do padrão em questão.

Portanto os 2 métodos de extração se mostraram eficientes para obtenção de extratos para utilização em medidas da capacidade antioxidante pelo método FRAP, sendo que o padrão ácido gálico foi melhor para extração por agitação, e o trolox melhor para extração por ultra-som.

Todos os resultados revelados para o FRAP neste trabalho, mostram que tanto a fruta quanto sua geléia são ótimas fontes de compostos antioxidantes, garantindo o consumo destes durante o decorrer do ano, pois mesmo a fruta tendo épocas de escassez a geléia é de fácil aquisição todas as épocas do ano.

### **2.3.5 Análises da atividade antioxidante pelo método ABTS**

Os extratos obtidos através da extração por agitação e da extração por ultra-som, tiveram sua atividade antioxidante medida pelo método ABTS, seus resultados estão expressos na Tabela 5 e nos gráficos 15 a 17.

Tabela 5: Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] dos extratos de *M. jabuticaba* suas frações e sua geléia (mg/g de amostra de equivalente em ácido gálico e equivalente trolox) em base úmida.

Amostra	Extração por Agitação		Extração por Ultra-som	
	Ác. Gálico	Trolox	Ác. Gálico	Trolox
<b>Fruta</b>	0,42 <sup>Bb</sup> ± 0,01	0,80 <sup>Bb</sup> ± 0,01	1,88 <sup>Ac</sup> ± 0,01	9,08 <sup>Ac</sup> ± 0,07
<b>Casca</b>	0,68 <sup>Ba</sup> ± 0,02	1,30 <sup>Ba</sup> ± 0,04	5,89 <sup>Ab</sup> ± 0,25	27,77 <sup>Ab</sup> ± 1,10
<b>Polpa</b>	-----	-----	ND	ND
<b>Semente</b>	-----	-----	323,57 <sup>a</sup> ± 0,97	60,17 <sup>a</sup> ± 0,17
<b>Geléia</b>	0,20 <sup>Bc</sup> ± 0,01	0,38 <sup>Bc</sup> ± 0,01	1,45 <sup>Ac</sup> ± 0,05	6,87 <sup>Ad</sup> ± 0,24

Letras maiúsculas iguais representam médias iguais nas colunas e minúsculas iguais representam médias iguais nas linhas. \*(mg/g de amostra de equivalente em ácido gálico e equivalente em trolox). Tukey  $p \leq 0,05$ ,  $n=3$ .

Os resultados obtidos pela avaliação da atividade antioxidante (método ABTS) através dos extratos adquiridos da extração por agitação, revelaram diferença significativa para todas as amostras em ambos os padrões. A casca como esperado mostrou a maior concentração de compostos antioxidantes concordando com os resultados anteriores (antocianinas, compostos fenólicos, FRAP, que estão expostos nas Tabelas 2, 3 e 4 respectivamente), a fruta ficou em segundo lugar, seguida pela geléia que teve a menor concentração destes compostos, os resultados para fruta e geléia também concordam com os resultados anteriores. Confirmando que as amostras em questão realmente são fontes destes compostos.

Na pesquisa de Rufino et al., (2010) foi revelada atividade antioxidante (método ABTS) para amostra seca de jabuticaba de 138 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, valor este superior ao encontrado no presente estudo (extrato obtido pela extração por agitação) que foi de aproximadamente 17,20 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, provavelmente isto ocorreu pelo fato do método ABTS não ter reagido bem em meio ácido, pois o solvente utilizado no extrato em questão foi acidificado a 1% com HCL.

Silva (2010), mostrou em seu trabalho valor da atividade antioxidante (método ABTS) para casca da jabuticaba de 723 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, este valor foi maior que o encontrado na presente pesquisa (extratos obtidos pela extração por agitação) que foi de 29 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, assim como discutido acima isso deve ter ocorrido pelo fato de ter sido utilizado solvente acidificado.

No artigo de Thaipong et al., (2006), foi mostrado valor para atividade antioxidante da goiaba (método ABTS) de 22,3 a 37,9 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, valor superior ao encontrado para a jabuticaba neste trabalho que foi de 3,2 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, como explicado anteriormente este valor é devido a utilização do solvente acidificado.

Vedana et al., (2008), publicou em seu estudo a atividade antioxidante da geléia de uva (método ABTS) que foi de 1,71 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, resultado semelhante ao encontrado para a geléia de jabuticaba pesquisada neste trabalho que foi de aproximadamente 1,54 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  amostra fresca, mostrando que a geléia de jabuticaba é uma fonte tão boa de compostos antioxidantes quanto a geléia de uva.

Na pesquisa efetuada por Falcão et al., (2007), foi obtido níveis de atividade antioxidante (método ABTS) para geléia de uva de 3,1 a 10,2 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, valores superiores ao encontrado para a geléia aqui estudada que foi de aproximadamente 1,54 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra, este fato já foi explicado acima, para os resultados obtidos para jabuticaba e para sua casca.

A extração por agitação provavelmente mascarou os dados para a atividade antioxidante das amostras aqui analisadas, pelo fato dela utilizar solvente acidificado a 1% com HCL, como solvente de extração, isso interferiu na eficiência do método ABTS. Com tudo as amostras aqui pesquisadas são boas fontes destes compostos.

Os valores mostrados para atividade antioxidante (método ABTS), obtidos dos extratos da extração por ultra-som, deram diferença significativa entre as amostras estudadas. A semente teve a maior atividade antioxidante, porém como comentado no método FRAP, este resultado é um falso positivo, em segundo

lugar ficou a casca concordando com os resultados anteriores (antocianinas totais, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante FRAP, expostos nas Tabelas 2, 3, 4 respectivamente), seguida pela fruta e geléia qual mostrou a menor atividade antioxidante, sendo que estes valores também concordam com os resultados anteriores.

No artigo de Rufino et al., (2010) foi mostrada a atividade antioxidante (método ABTS) para amostra seca de jabuticaba de 138 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, valor este inferior ao encontrado na presente pesquisa (extrato obtido pela extração por ultra-som) que foi de aproximadamente 194,15 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, a diferença entre os resultados é explicada pela variedade, grau de maturação da fruta entre outros fatores.

A pesquisa de Silva (2010), expôs o valor da atividade antioxidante (método ABTS) para casca da jabuticaba de 723 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, resultado semelhante ao encontrado no presente estudo (extratos obtidos pela extração por ultra-som) que foi de 616,85 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra seca, comprovando assim o poder antioxidante desta amostra.

Thaipong et al., (2006), mostrou o nível da atividade antioxidante da goiaba (método ABTS) de 22,3 a 37,9 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, resultado muito semelhante ao encontrado para a jabuticaba neste trabalho que foi de 36,28 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, isso provavelmente ocorreu por essas duas frutas pertencerem a mesma família (família das *Myrtaceas*).

O trabalho de Vedana et al., (2008), revelou a atividade antioxidante da geléia de uva (método ABTS) que foi de 1,71 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, já Falcão et al., (2007), expôs níveis de atividade antioxidante (método ABTS) para geléia de uva de 3,1 a 10,2 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  de amostra fresca, valores estes bem inferiores ao mostrado para a geléia de jabuticaba aqui pesquisada que foi de aproximadamente 27,48 E.T  $\mu\text{molL}^{-1}/\text{g}$  amostra fresca, comprovando que a geléia analisada neste trabalho é uma ótima fonte de compostos antioxidantes, possibilitando que todos os consumidores engiram estes compostos durante o decorrer do ano, pois a fruta não é encontrada em todos os lugares e em

determinadas épocas do ano é escassa, enquanto a geléia é encontrada em todos os lugares e durante todas as épocas do ano.

Os resultados mostrados para atividade antioxidante (método ABTS), resultantes dos extratos da extração por ultra-som, confirmam que as amostras aqui analisadas são ótimas fontes de compostos antioxidantes, revelando a importância desta para a dieta da população, lembrando que elas são populares, baratas e de fácil aquisição para os consumidores como um todo.

Comparando os métodos de extração como um todo, pois como discutido anteriormente, eles utilizaram solventes de extração diferentes e tempos de extração diferentes, para a análise de atividade antioxidante (método ABTS), os resultados mostram diferença significativa entre os 2 métodos de extração.

A extração por ultra-som mostrou ser mais eficiente que a extração por agitação, em todas as amostras e em ambos os padrões. Como discutido acima isso provavelmente aconteceu pelo fato da extração por agitação utilizar como solvente de extração etanol acidificado com HCL, que possivelmente dificultou a ação do ABTS e dos padrões utilizados (ácido gálico e trolox). Enquanto a extração por ultra-som utilizou como solvente etanol e água Milli.Q, o que possivelmente colaborou para uma ação mais eficiente do ABTS e dos padrões aqui empregados.

## **2.4 Conclusão**

Este trabalho mostrou que as antocianinas e os compostos fenólicos totais estão concentrados na casca da *M. jaboticaba*, conseqüentemente esta obteve a maior atividade antioxidante. A fruta inteira ficou em segundo lugar no teor dos compostos acima citados, pelo fato destes se diluírem na polpa e na semente quando o extrato é preparado. A geléia obteve valores menores de antocianinas totais, compostos fenólicos totais e conseqüentemente menor atividade antioxidante quando comparada a fruta, isso se deve ao fato de se utilizar apenas a polpa e traços da casca na composição desta geléia. Pois se fosse adicionada

uma porcentagem de casca, provavelmente as concentrações destes compostos aumentariam consideravelmente.

Quanto aos métodos de extração aqui utilizados, a extração por agitação mostrou ser mais eficiente para as antocianinas totais, e para os compostos fenólicos totais da fruta e da casca. Em relação à atividade antioxidante esta extração foi eficiente apenas para o método FRAP utilizando ácido gálico como padrão. Isso ocorreu devido ao solvente de extração utilizado que foi etanol acidificado a 1% com HCL, o que provavelmente prejudicou a reação do método FRAP assim como a do método ABTS e dos padrões utilizados ácido gálico e trolox.

Já a extração utilizando ultra-som foi mais eficiente para os compostos fenólicos totais da geléia, pelo fato desta ter usado como solvente de extração etanol e água Milli.Q, o qual proporcionou melhor diluição da amostra, pois como se sabe devido à composição da geléia que contem alta porcentagem de açúcar ela é mais solúvel em solventes que contenham água. Esta extração foi mais eficiente que a extração por agitação para os métodos de atividade antioxidante FRAP e ABTS, pelo fato desta ter utilizado como solvente de extração etanol e água Milli.Q, o qual proporcionou melhor desempenho para estes métodos e seus respectivos padrões.

Com tudo os resultados mostrados comprovam que as amostras aqui analisadas são ótimas fontes de antocianinas totais, compostos fenólicos totais e compostos antioxidantes.

Sendo que a fruta assim como sua geléia são fáceis de serem encontradas e conseqüentemente adquiridas além de possuírem baixo custo o que proporciona que toda a população independente da classe social tenham acesso a estas, dessa forma facilitando a ingestão praticamente diária destes compostos comprovadamente benéficos a saúde, prevenindo doenças como câncer e doenças cardiovasculares.

## 2.5 Referências Bibliográficas

ABDILLE, M. D.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. Food Chem. v. 891, p. 90, 2005.

ALVES, Q. C.; DAVID, M. J.; DAVID, P. J.; BHAIA, V. R.; AGUIAR, M. R. Métodos Para Determinação De Atividade Antioxidante *In Vitro* Em Substratos Orgânicos. Res.: Química Nova, v. XY, No. 00, p. 1-9, 2010.

ASCHERI, R. P. D.; ASCHERI, R. L. J.; CARVALHO, P. W. C. Caracterização da Farinha de Jabuticaba e Propriedades Funcionais dos Extrusados. Ciênc. Technol. Aliment. v. 26 n. 4, p. 1-21, 2006.

ANTOLOVICH, M; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. Analyst, v. 127, p. 183-198, 2002.

ANVISA. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Gerência-Geral Alimentos. Resolução -CNNPA nº 12, de 1978, D.O. de 24/07/1978. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_78.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf). Acessado em: 12/12.

ANVISA BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução nº 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova revisão das tabelas I, III, IV e V referente a aditivos intencionais, bem como os anexos I, II, III e VII, todas do decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1965. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 19 dez. 1988. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/04\\_cns.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/04_cns.pdf). Acesso em: 12 out. 2010.

BARCIA, T. M.; MEDINA, L. A.; ZAMBIAZI, C. R. Características Físico químicas e Sensoriais de Geléias de Jambolão. B.CEPPA, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 25-36, 2010

BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLUM, W. C. A.; MANLEY, M. Antioxidant Activity of South African Red and White Cultivar Wines: Free Radical Scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 902-909, 2003

BENZIE, I.F.F.; E STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, v. 239(1), p. 70-76, 1996.

BRAVO, M. N.; SILVA, S.; COELHO, A.; BOAS, L. V.; BRONZE, M. R. Analysis of Phenolic Compounds in Muscatel Wines Produced in Portugal. *Anal. Chim. Acta*, v. 563, p. 84-92, 2006.

BRUNINI, A. M. Influência de Embalagens e Temperatura no Armazenamento de Jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba (Vell) Berg*) cv ‘Sabará’1. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 24(3), p. 378-383, 2004.

CECCHI, Heloísa Máscia. *Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos*, 2ª Edição, Campinas, SP, Editora da UNICAMP, pág. 89, 2003.

CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry* v. 14, p. 767–778, 2007.

CITADIN, I. et al. Qualidade de Frutos de Jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*) Sob Influencia de Duas Condições de Cultivo: Sombreamento Natural e Pleno Sol. *Nota Técnica.* , CEFET-PR – Unidade do sudoeste – Campus Pato Branco. v. 11, n. 3, p. 373-375, 2005.

CORRÊA, M. O. G.; PINTO, D. D.; ONO, E. O. Análise da atividade respiratória em frutos de jaboticabeira. Rev. Bras. Biociênc., Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 831-833, 2007.

COSTA, C. T.; HORTON, D.; MARGOLIS, S. A.; Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. J. Chromatogr., v. 881, p. 403, 2000.

DASTMALCHI, K.; DORMAN, H.; KOSAR, M.; HILTUNEN, R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. LWT, v. 40, p. 239, 2007.

DESSIMONI-PINTO, V. A.; N. MOREIRA, A. W.; CARDOSO, M. L.; Araújo PANTOJA, A. L. Jaboticaba peel for jelly preparation: an alternative technology. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, V. 31(4), p. 864-869, 2011.

ESCRÍBANO-BAILÓN, M. T.; SANTOS-BUELGA, C. In: Methods in polyphenol analysis. Polyphenol Extraction from Foods. The Royal Society of chemistry, p. 1-15, 2003.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; FALCÃO, L. D.; BORDIGNON – LUIZ, M. T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v 27, n.3, p 637-642, 2007.

FERÁÑDEZ-PACHÓN, M. S.; VILLAÑO, D.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Antioxint activity of wines and relation with their polyphenolic composition. Analytica Chimica Acta, v. 513, p. 113-118, 2004.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J.; "Quantitative Methods for Antocyanins. Extraction and Determination of Antocyanin in Cranberries", J. Food Sci. v. 33, p. 72, 1968a.

GIUSTI, M., WROLSTAD, R. E., Characterization and measurement of Anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad, R. E. (Ed.), Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, New York. 2001.

GOMES, R. P. Fruticultura Brasileira. São Paul: Nobel, p. 263-7, 1973.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine, 4th ed.; Oxford University Press: Oxford, 2007.

HALLIWELL, B.; How t o characterize a biological antioxidant. Free Radical Res. Commun. v. 9, p. 1-32, 1990.

IRIS F. F.; BENZIE and J. J. STRAIN. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”; the FRAP Assay. Analytical Biochemistry v. 239, p. 70-76, 1996.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. (Eds.) Natural Food Colorants. 2nd ed. Londres: Chapman & Hall, p. 245-309, 1996.

KIM, D. O.; HEO, H. J.; KIM, Y. J.; YANG, H. S.; LEE, C. Y. Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. J. Agric. Food Chem. v. 9921, p. 53, 2005.

KIM, D.-O.; PADILLA-ZAKOUR O.I. Jam Processing Effect on Phenolics and Antioxidant Capacity in Anthocyanin-rich Fruits: Cherry, Plum, and Raspberry. JOURNAL OF FOOD SCIENCE v. 69, Nr. 9, p 395-399, 2004.

LEE, K.J.; ROW, K.H. Enhanced extraction of isoflavones from korean soybean by ultrasonic wave. Korean Journal of Chemical Engineering v. 23 (5), p. 779–783, 2006.

LEITE, V. A. Avaliação da composição e da capacidade antioxidante “*in vivo*” e “*in vitro*” de antocianinas da casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) liofilizada em ratos Wistar Dissertacao de Mestrado UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRICAÇÃO 2010.

LIMA, B. J. A. Caracterização Química do Fruto Jaboticaba (*Myrciaria Cauliflora* Berg) e de Suas Frações. Archivos Latinos Americanos De Nutricion v. 58, n 4, p. 416 – 421, 2008.

LOPES, T. J. Adsorção de antocianinas de repolho-roxo em argila. Tese de Mestrado. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina. p. 140, 2002.

LOPES, T. J.; QUADRI, M. B.; QUADRI, M. G. N. Estudo experimental da Adsorção de Antocianinas comercial de Repolho-roxo em argilas no processo de batelada. Brazilian Journal of Food Techonology, v. 9, p. 49-56, 2006.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. B. CEPPA, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. Journal of American Oil Society, v. 45, p. 594-598, 1968.

Maria Isabel Simczak VEDANA Cristiane ZIEMER Obdúlio Gomes MIGUEL Augustus Caesar PORTELLA Lys Mary Bileski CANDIDO. EFEITO DO PROCESSAMENTO NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE UVA. Alim. Nutr., Araraquara ISSN 0103-4235 v.19, n.2, p. 159-165, 2008.

MILLER, H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. Journal of American. Oil Society, v. 48, p. 91, 1971.

MOLNÁR-PERL, I.; FÜZFAI, Z.; Chromatographic, capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids. *J. Chromatogr.* v. 1073, p. 201, 2005.

MORELLI, L. L. L.; PRADO, M. A. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, In Press, Corrected Proof, Available online, 28 March 2012.

NEPA-UNICAMP Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP. Versão II. 2. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, p.113, 2006.

OLIVEIRA, L. A.; BRUNINI, A. M.; SALANDINI, R. A. C.; BAZZO, R. F. Caracterização Tecnológica de Jaboticabas 'Sabará' Provenientes de Diferentes Regiões de Cultivo. *Revista brasileira de Fruticultura.* v. 25, n. 3, 2003.

PALUDO, M. C. Ação da Enzima Pectinase na Extração do Suco de Jaboticaba. TCC Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Paranaense, Nutrição. 2009.

PAIXÃO, N.; PERESTRELO, R.; MARQUES, J. C.; CÂMARA, J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and White wines. *Food Chemistry*, v. 105, p. 204-214, 2007.

PINELO, M.; MONZOCCO, L.; NUÑEZ, M.J.; NICOLI, M.C. Interaction among phenolics in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 1177-1180, 2004.

Rababah, M. T.; Al-Mahasneh, A. M.; Kilani, I.; Yang, W.; Alhamad, N. M. Khalil Ereifeja and Muhammad Al-u'datta Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits *J Sci Food Agric* v. 91, p. 1096–1102, 2011

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry* v. 109 (4), p. 883–890, 2008.

REYNERTSON, K. A. Phytochemical analysis of bioactive constituents from edible myrtaceae fruits. New York: Tese-Graduate Faculty in Biology- City University of New York, 2007.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, M. A.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, J. M.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, B. I.; KENNELLY, J. E. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *J. Nat. Prod.*, Ohio, v. 69, n. 8, p. 1228-1230, 2006.

RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J. Chromatogr.*, v. 1112, p. 31, 2006.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, L. G.; RODRIGUES, E.; KUSKOKI, M. E.; FETT, R. Influência do Solvente no Conteúdo total de Polifenóis, Antocianinas e Atividade Antioxidante de Extratos de Bagaço de Uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p. 238-244, 2008

RUFINO, MSM., ALVES, RE, BRITO, ESDE, PEREZ-JIMENEZ, J, SAURACALIXTO, FD, MANCINI-FILHO, J (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of eighteen non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry* . doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.037

SANTOS, T. D.; VEGGI, C. P.; MEIRELES, A. A. M. Extraction Of Antioxidant Compounds From Jaboticaba (*Myrciaria Cauliflora*) Skins: Yiel, Composition And Economical Evaluation. v. 101 p. 23-31, 2010.

SILVA, S. R. Extração e estabilidade de pigmentos antociânicos de frutos de Maria-Prezinha (*Solanum americanum. Mili.*). Tese de Mestrado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. P. 76, 1996.

SAITO, M.; HOSOYAMA, H.; ARIGA, T.; KATAOKA, S.; YAMAJI, N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. J. Agric. Food Chem. v. 46, p. 1460-1464, 1998.

SILVA, S. P. Frutas no Brasil. São Paulo Nobel, p. 144-7, 2001.

SILVA, F. J. G. Formulação e Estabilidade de Corantes de Antocianinas Extraídas das Cascas de Jaboticaba (*Myrciaria ssp.*). Alim. Nutr., Araraquara, v. 21, n. 3, p. 429-436, 2010.

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

SINGLETON, V. L. Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. Adv. Food Res. v. 27, p. 149-242, 1981.

SONDHEIMER, E.; KERTSZ, Z. I.; Colorimetric Determination in Strawberries and Strawberry Products, Anal. Chem. v. 245, p. 20, 1948.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, C. P.; OLIVEIRA, A. F. Comparação de Métodos Para Quantificação de Antocianinas. Revista Ceres v. 0034-737, 2008.

TOCCHINI, M. E. S.; Apostila de Bromatologia II, COTUCA-UNICAMP, pág.14, 2011.

TOGNON, A. H. L. H.; AMSTALDEN, I. M. P. Apostila de Bromatologia I, COTUCA – UNICAMP, pág.52, 56, 2010.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOPA, U.; CROSBYB, K.; CISNEROS-ZEVALLOSC, L.; BYRNEC, H. D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* v. 19, p. 669–675, 2006.

TOCCHINI, M. E. S.; Apostila de Bromatologia II ,COTUCA-UNICAMP, pág. 6, 7, 14, 17, 91, 2011.

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, A. M.; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da estrutura e função. *Nutrire* v. 95, p. 31, 2006.

VAQUEIRO, M. J. R.; ALBERTO, M.; NADRA, M. C. M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, v. 18, p. 93-101, 2007.

VEDANA, S. I. M.; ZIEMER, C.; MIGUEL, G. O.; PORTELLA, C. A.; CANDIDO, B. M. L. EFEITO DO PROCESSAMENTO NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE UVA *Alim. Nutr.*, Araraquara v.19, n.2, p. 159-165, 2008.

WROLSTAD, R. E.; HONG, V.; BOYLES, M. J.; DURST, R. W. Use of Anthocyanin Pigment Analysis for Detection in Fruit Juices. In: *Methods to Detect Adulteration in Fruit Juice and Beverages*; Nagy S.; Wade, R. L.; ed., Ag Science: Auburndale, v. I, 1995.

ZHANG, H.-F.; YANG, X.-H.; ZHAO, L.-D.; WANG, Y. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of epimedium and extraction mechanism. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* v. 10, p. 54–60, 2009.

### **3. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS**

Seria interessante formular a geléia de jabuticaba com adição de casca, para verificar se com isto realmente ocorre aumento significativo no teor de antocianinas e compostos fenólicos totais, neste produto. Também é válido identificar as antocianinas e os compostos fenólicos contidos na geléia através de métodos cromatográficos.



#### 4. ANEXOS

**Anexo 1.** Planejamento experimental para extração de fenólicos dois na três.

Solvente: Etanol: 0 – 100%

$$1 \times 50 / 1,68 = 29,76 - 29,80$$

$$+1 = 29,80 + 50 = 79,80$$

$$-1 = 50 - 29,80 = 20,2$$

Temperatura: 30 – 65°C

$$1 \times 18 / 1,68 = 10,71$$

$$+1 = 10,71 + 47 = 58$$

$$-1 = 47 - 10,71 = 37$$

Tempo: 0 – 30 min.

$$1 \times 15 / 1,68 = 8,92$$

$$+1 = 15 + 8,92 = 23,92 - 24$$

$$-1 = 15 - 8,92 = 6,08 - 6$$

<b>-1,68</b>	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>+1</b>	<b>+1,68</b>
0	20,2	50	79,80	100
30	37	47	58	65
0	6	15	24	30

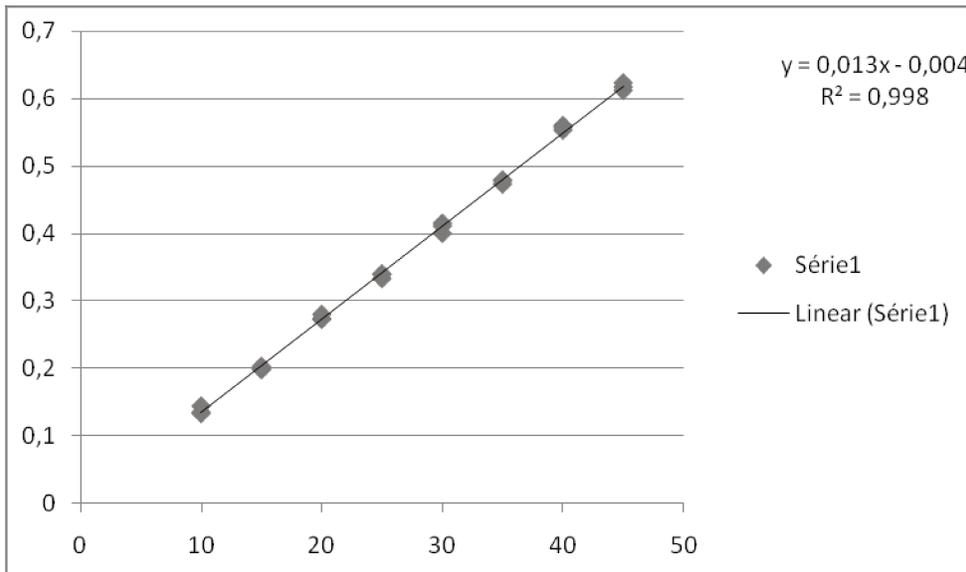
<b>Número</b>	<b>Solvente</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	-1,68	0	0
13	+1,68	0	0
14	0	-1,68	0
15	0	+1,68	0
16	0	0	-1,68
17	0	0	+1,68
-	-	-	-

Número	Solvente %	Temperatura graus	Tempo min
1	20,2	37	6
2	79,8	37	6
3	79,8	58	6
4	79,8	58	6
5	20,2	37	24
6	79,8	37	24
7	20,2	58	24
8	79,8	58	24
9	50	47	15
10	50	47	15
11	50	47	15
12	0	47	15
13	100	47	15
14	50	30	15
15	50	65	15
16	50	47	0
17	50	47	30

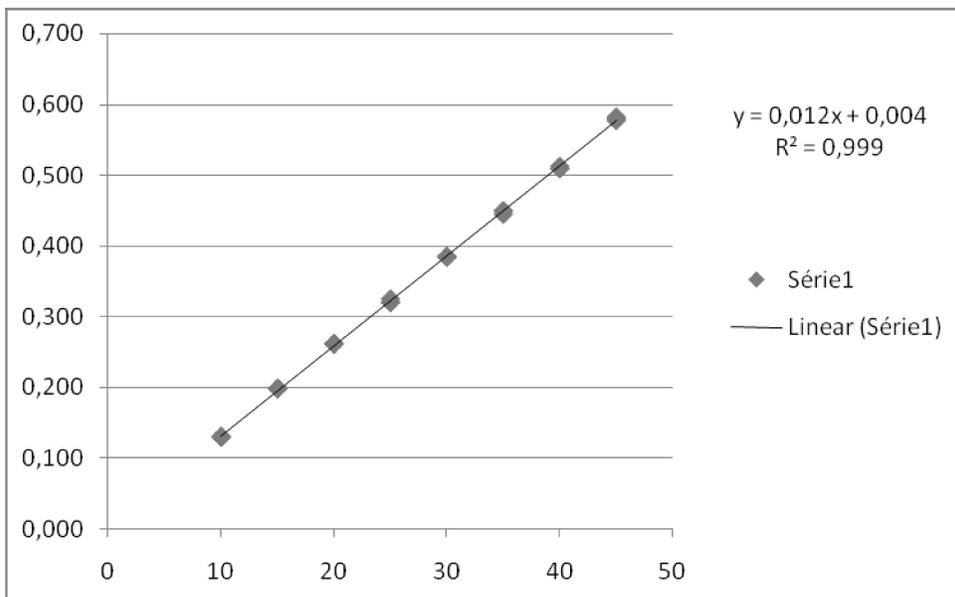
Pontos ótimos para cada parâmetro (solvente, temperatura e tempo de extração), para cada amostra (jabuticaba, sua casca, polpa, semente assim como sua geléia).

	Jabuticaba	Casca	Polpa	Semente	Geléia
Solvente % de etanol	61,32	34,81	57,15	34,81	56,55
Temperatura °C	30	49	50	49	49
Tempo minutos	30	20	13	20	22

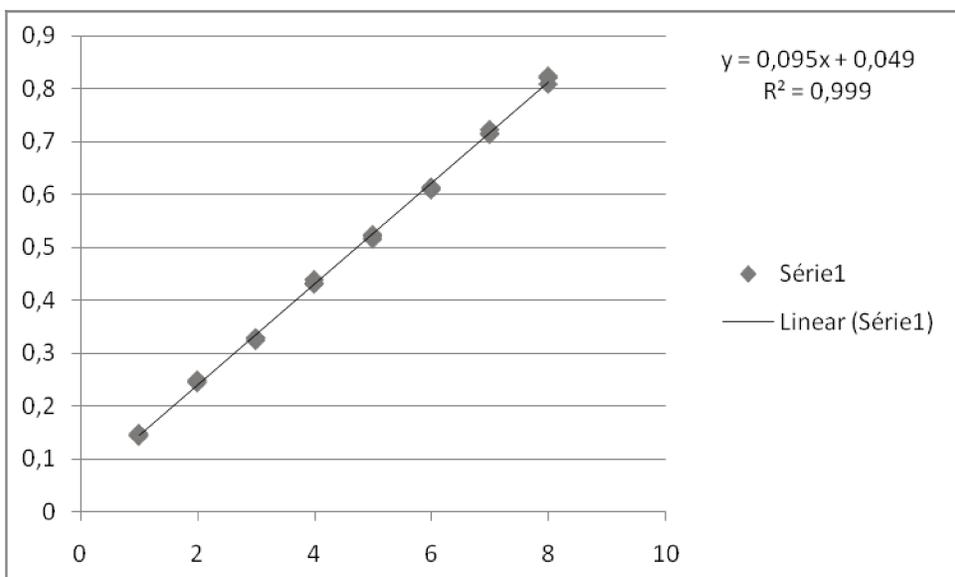
**2. Curva de ácido gálico µg/ml, utilizada para expressar os fenólicos totais obtidos pela extração por agitação.**



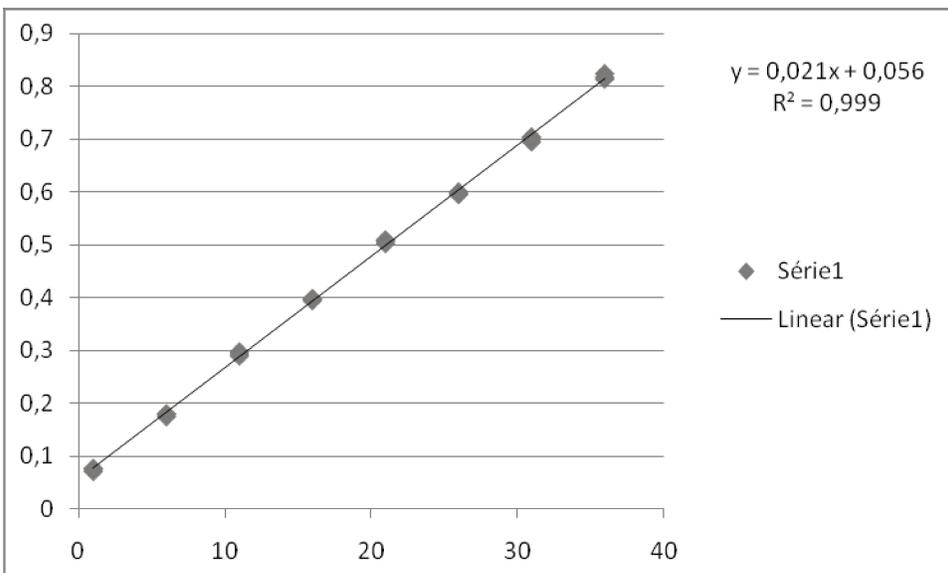
**3. Curva de ácido gálico µg/ml, utilizada para expressar os fenólicos totais obtidos pela extração por ultra-som.**



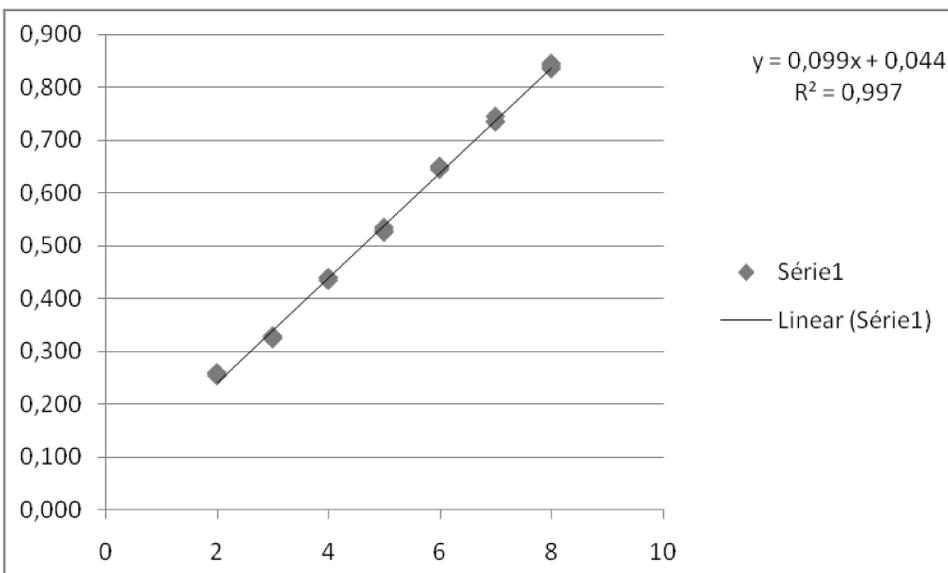
**4. Curva de ácido gálico  $\mu\text{g/ml}$ , utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método FRAP sobre os extratos adquiridos pela extração por agitação.**



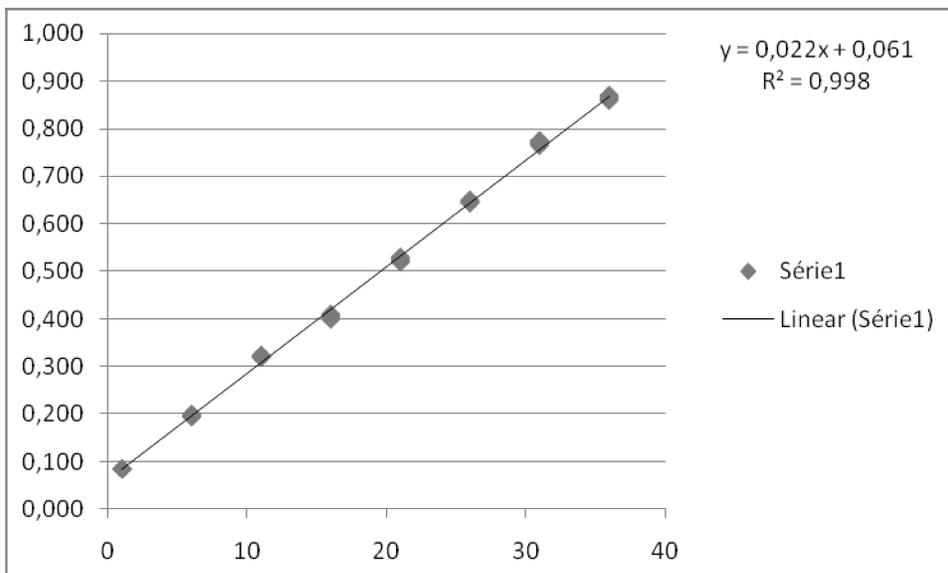
**5. Curva de trolox  $\mu\text{g/ml}$ , utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método FRAP sobre os extratos adquiridos pela extração por agitação.**



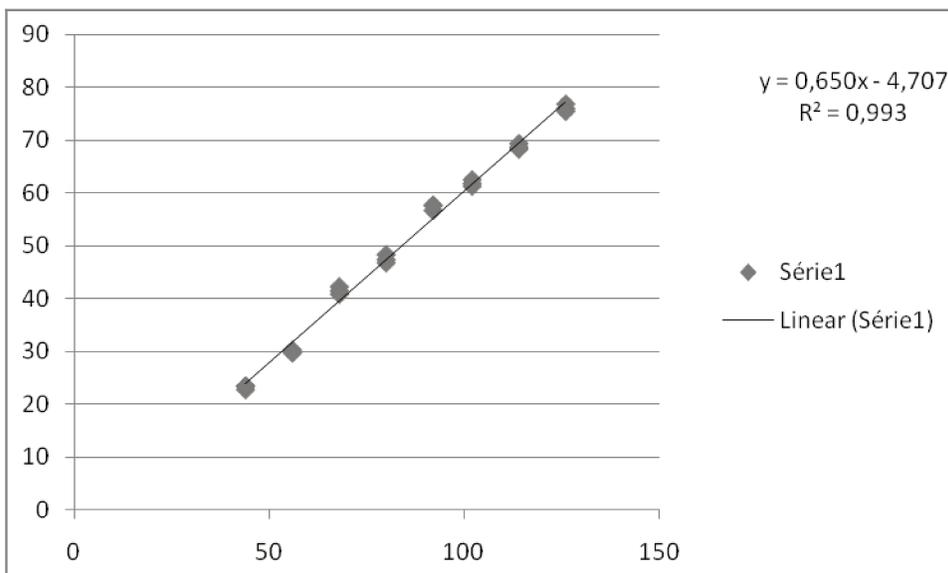
**6. Curva de ácido gálico  $\mu\text{g/ml}$ , utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método FRAP sobre os extratos adquiridos pela extração por ultra-som.**



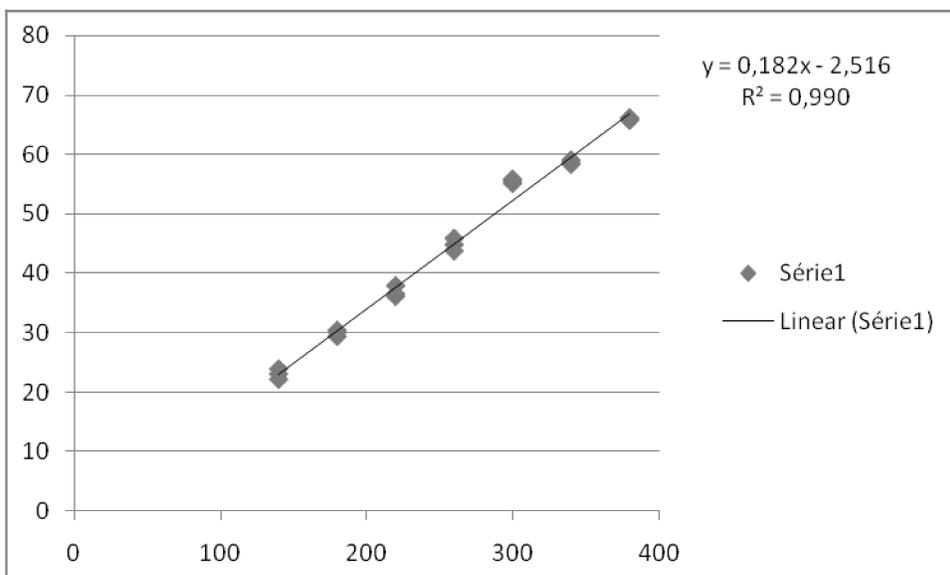
**7. Curva de trolox  $\mu\text{g/ml}$ , utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método FRAP sobre os extratos adquiridos pela extração por ultra-som.**



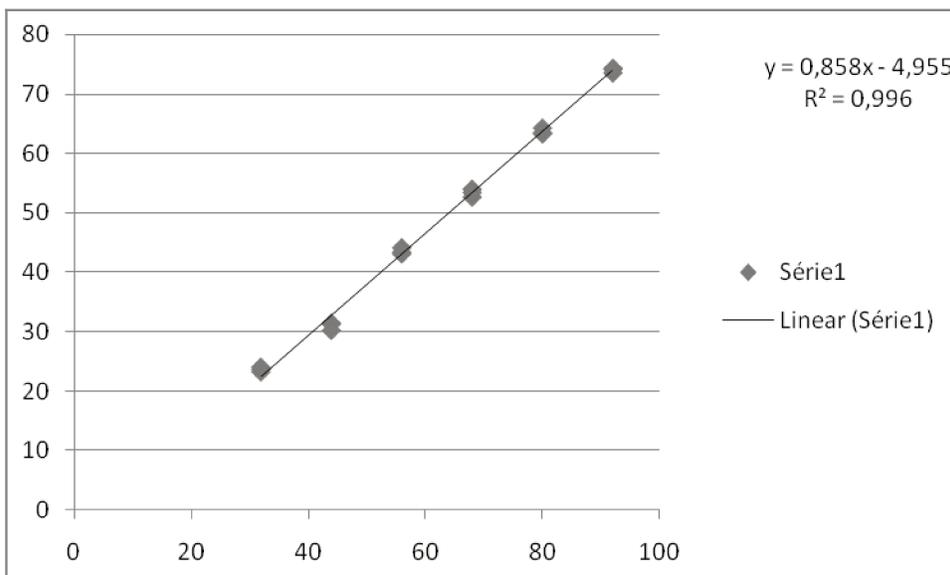
**8. Curva de ácido gálico  $\mu\text{g/ml}$ , utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método ABTS sobre os extratos adquiridos pela extração por agitação.**



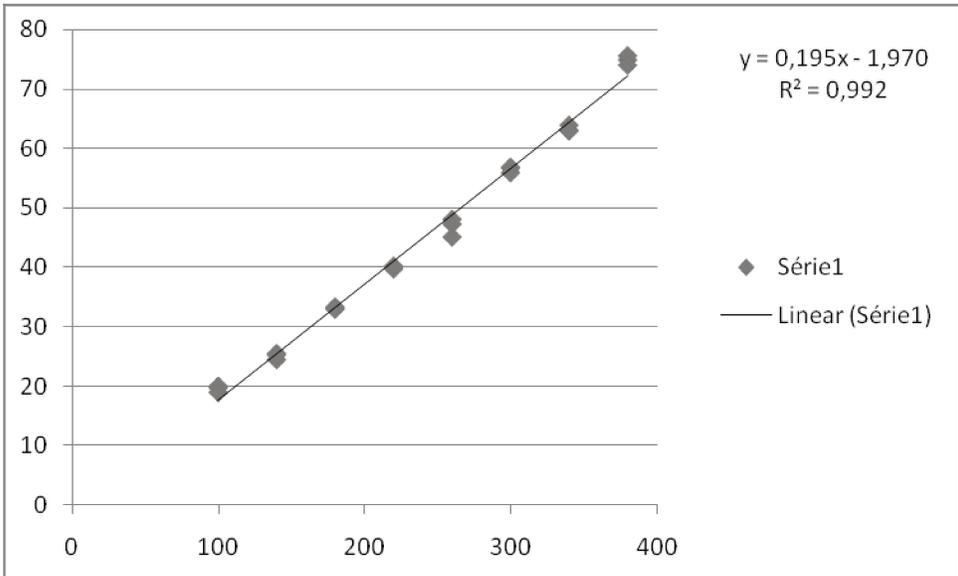
**9. Curva de trolox  $\mu\text{g/ml}$ , utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método ABTS sobre os extratos adquiridos pela extração por agitação.**



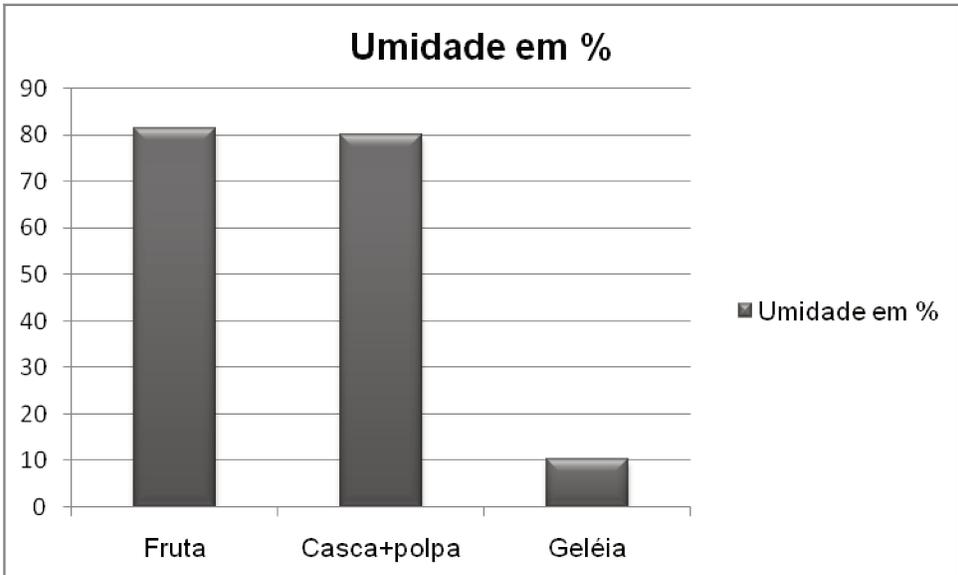
**10. Curva de ácido gálico µg/ml, utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método ABTS sobre os extratos adquiridos pela extração por ultra-som.**



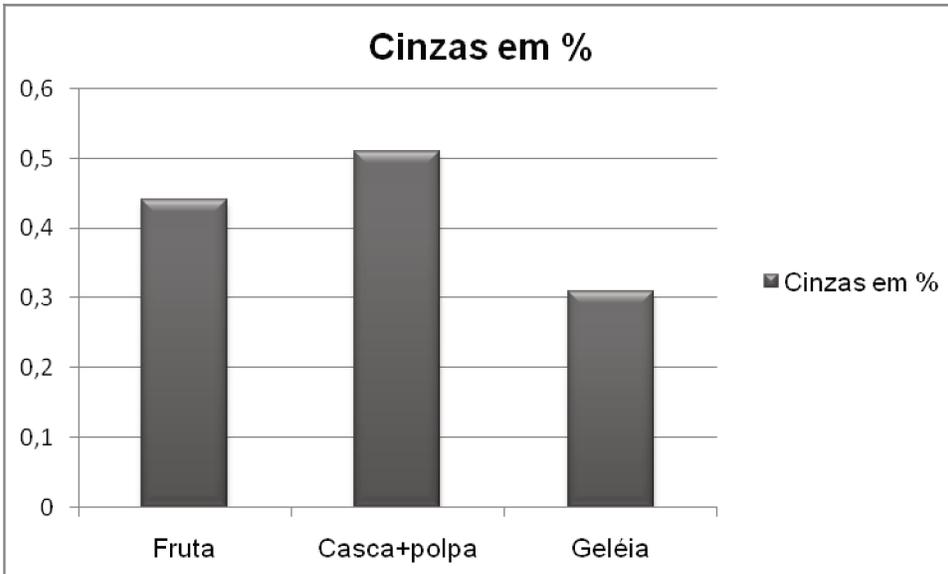
**11. Curva de trolox µg/ml, utilizada para expressar a atividade antioxidante pelo método ABTS sobre os extratos adquiridos pela extração por ultra-som.**



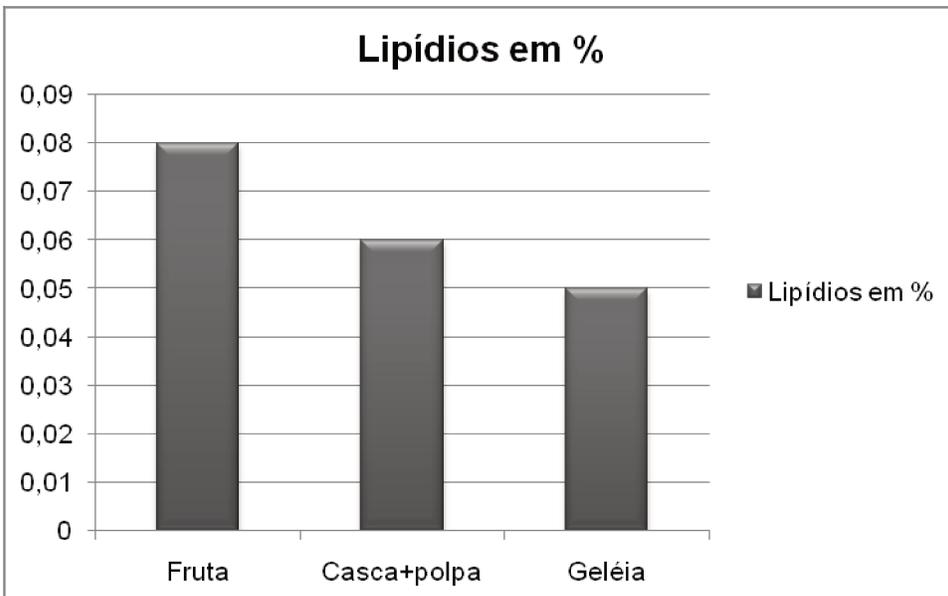
**Gráfico 1 teor de umidade das amostras.**



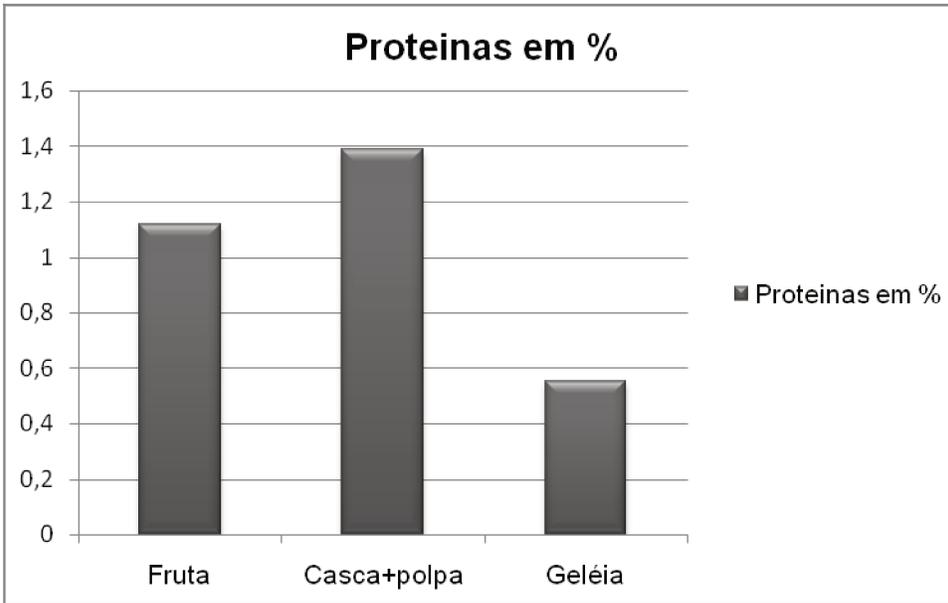
**Gráfico 2 teor de cinzas das amostras.**



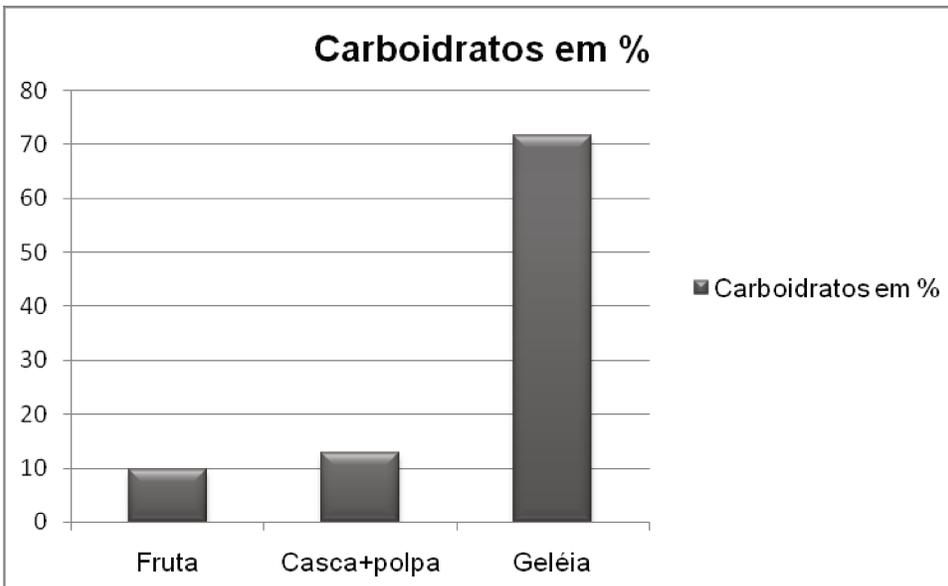
**Gráfico 3 teor de lipídios das amostras.**



**Gráfico 4 teor de proteínas das amostras.**



**Gráfico 5 teor de carboitratos das amostras.**



**Gráfico 6 pH das amostras.**

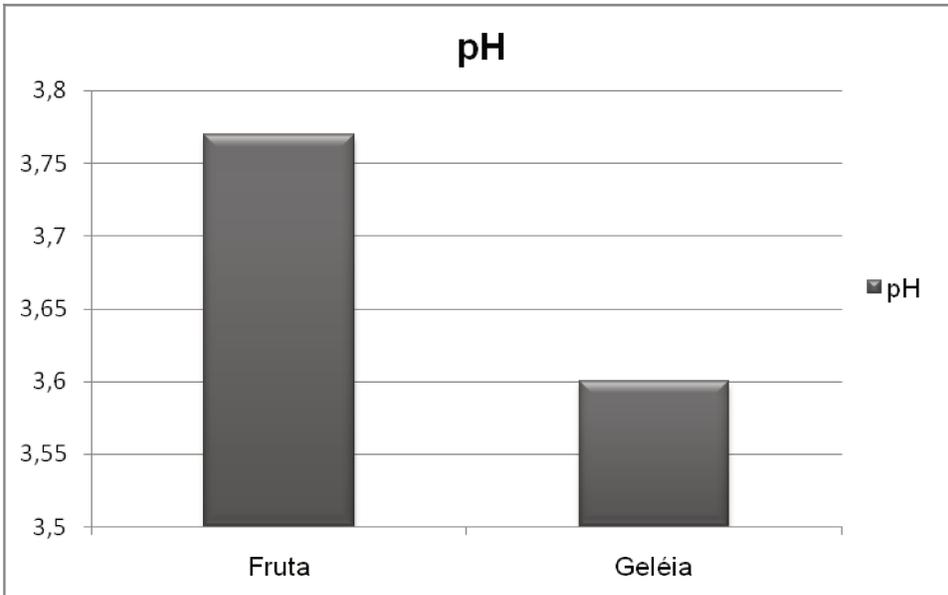


Gráfico 7 <sup>o</sup>Brix das amostras.

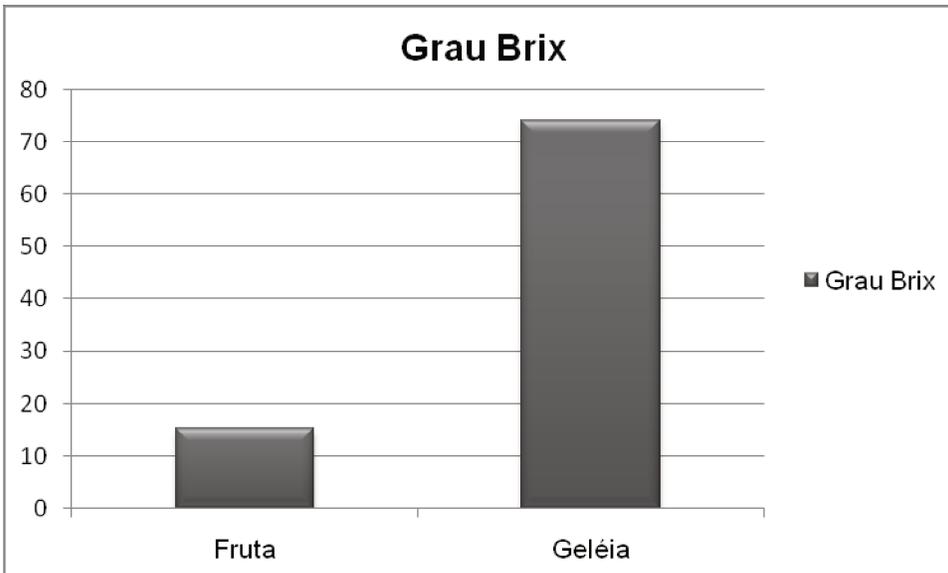
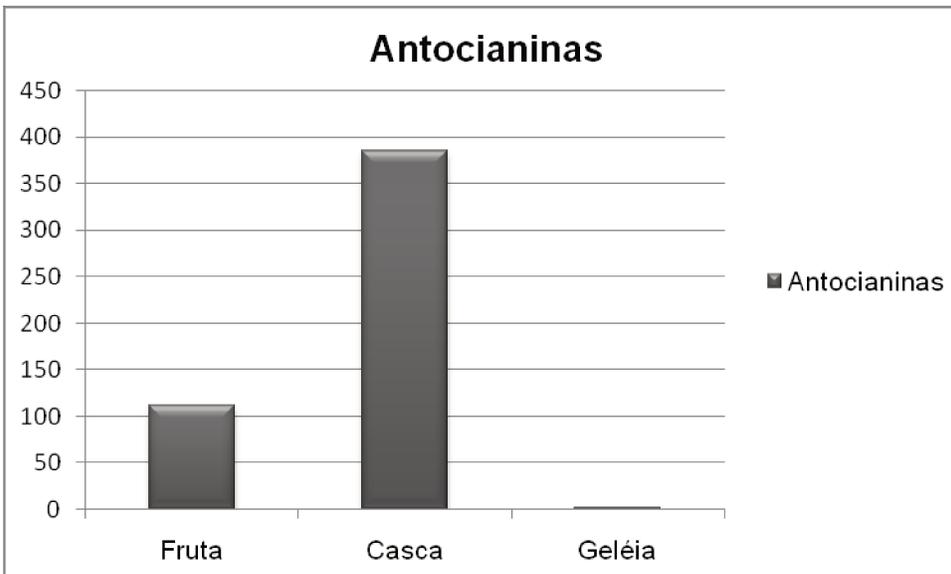
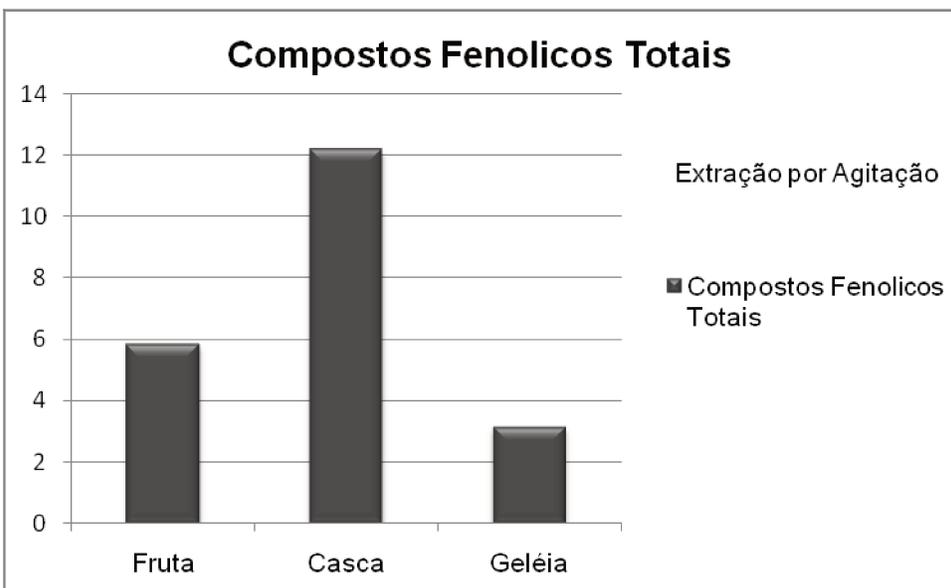


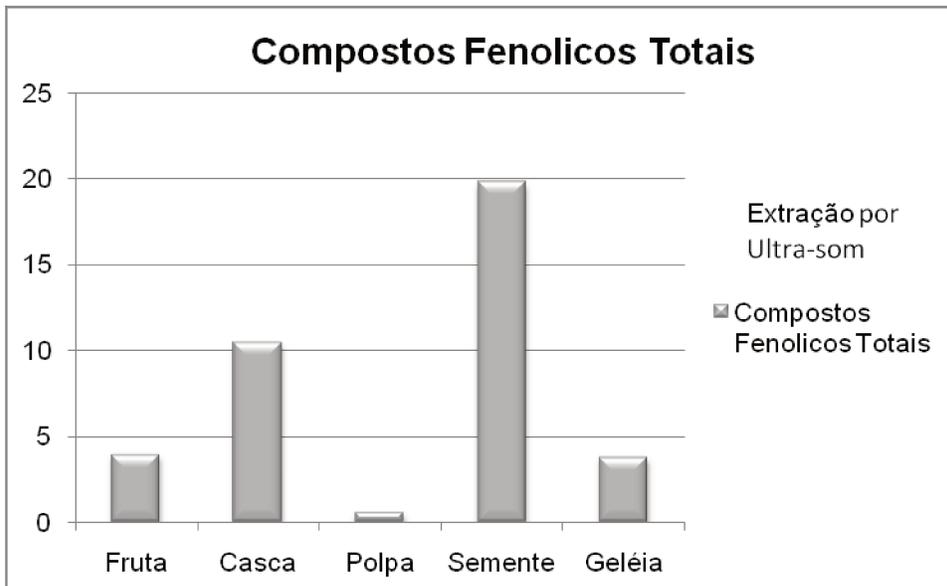
Gráfico 8 teor de antocianinas das amostras.



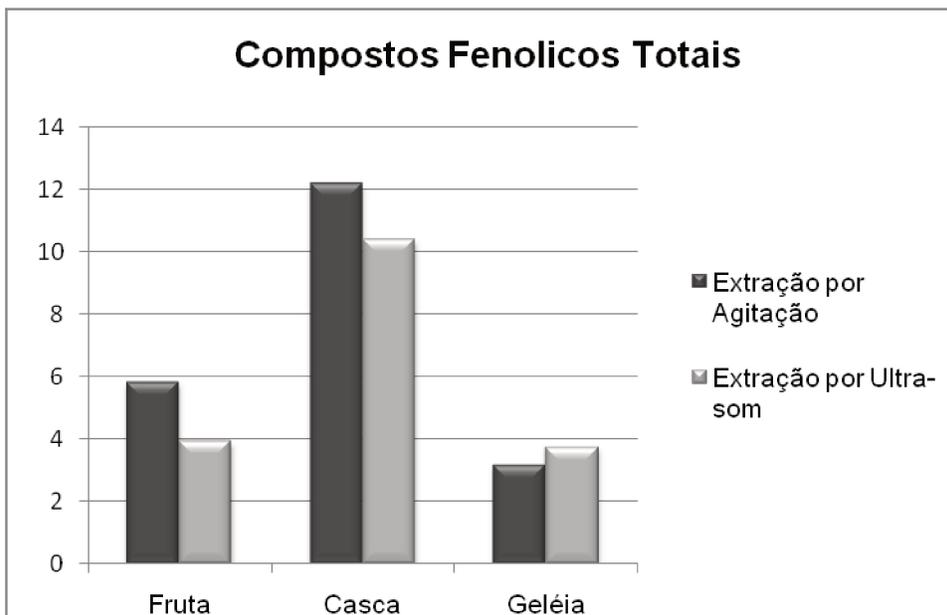
**Gráfico 9** teor de compostos fenólicos totais das amostras obtidos pela extração por agitação.



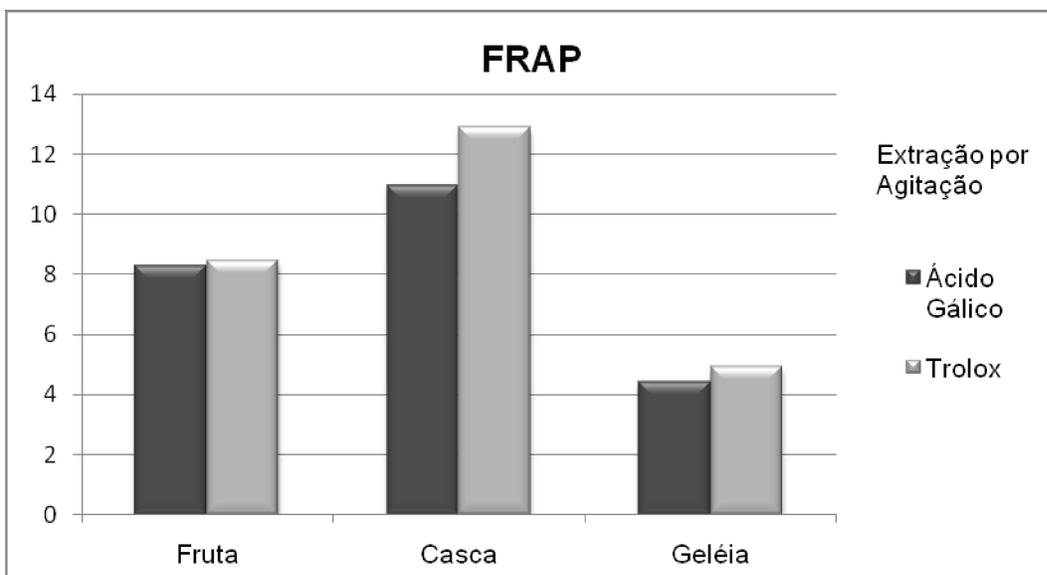
**Gráfico 10** teor de compostos fenólicos totais das amostras obtidos pela extração por ultra-som.



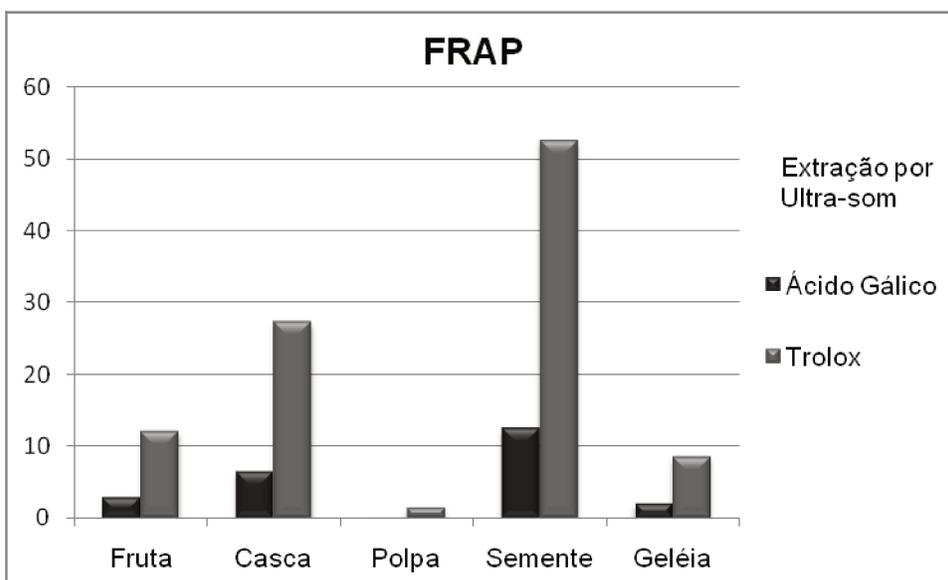
**Gráfico 11** teor de compostos fenólicos totais das amostras obtidos pelas extrações por agitação e ultra-som.



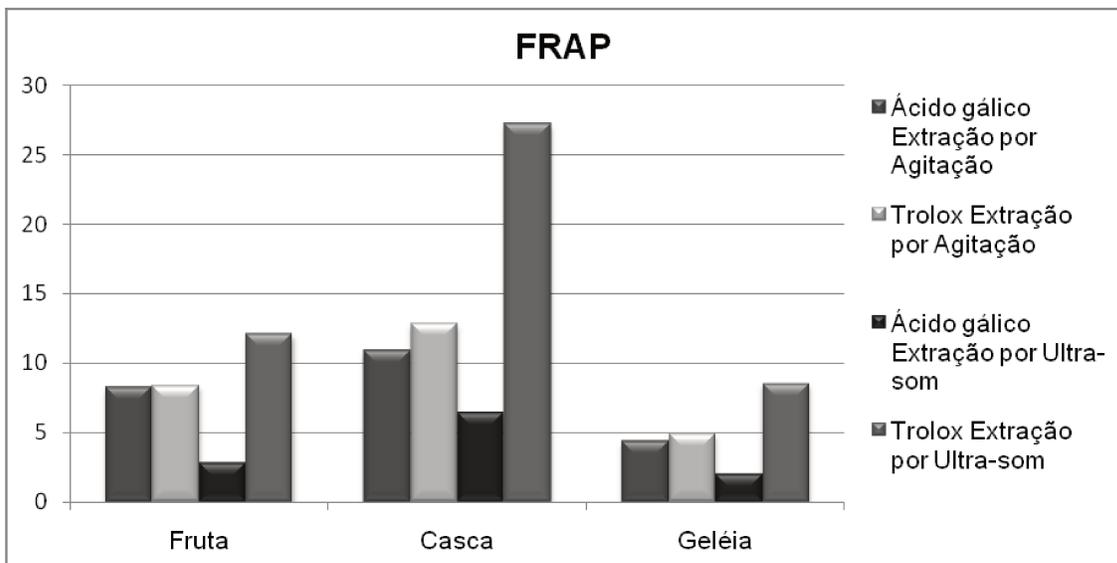
**Gráfico 12** atividade antioxidante das amostras pelo método FRAP, obtidas através da extração por agitação.



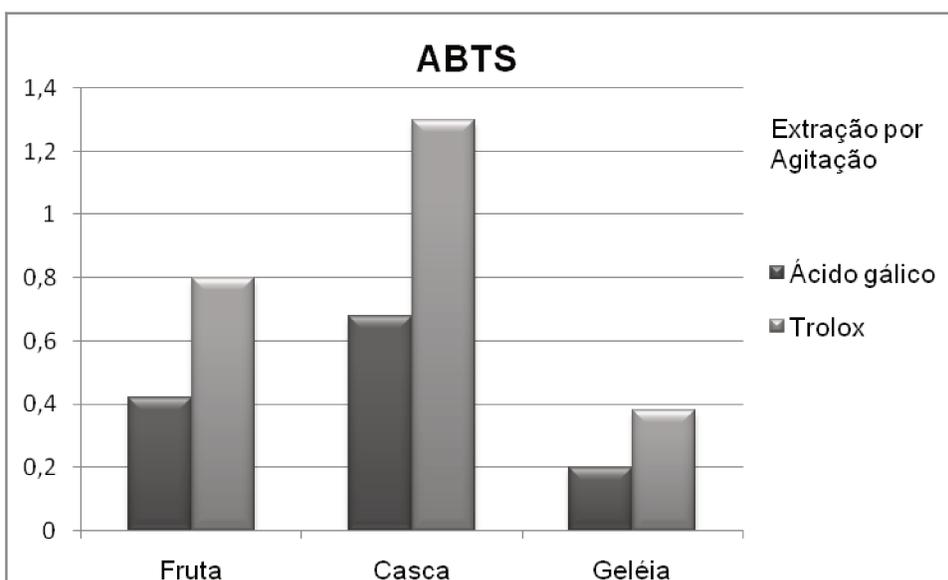
**Gráfico 13** atividade antioxidante das amostras pelo método FRAP, obtidas através da extração por ultra-som.



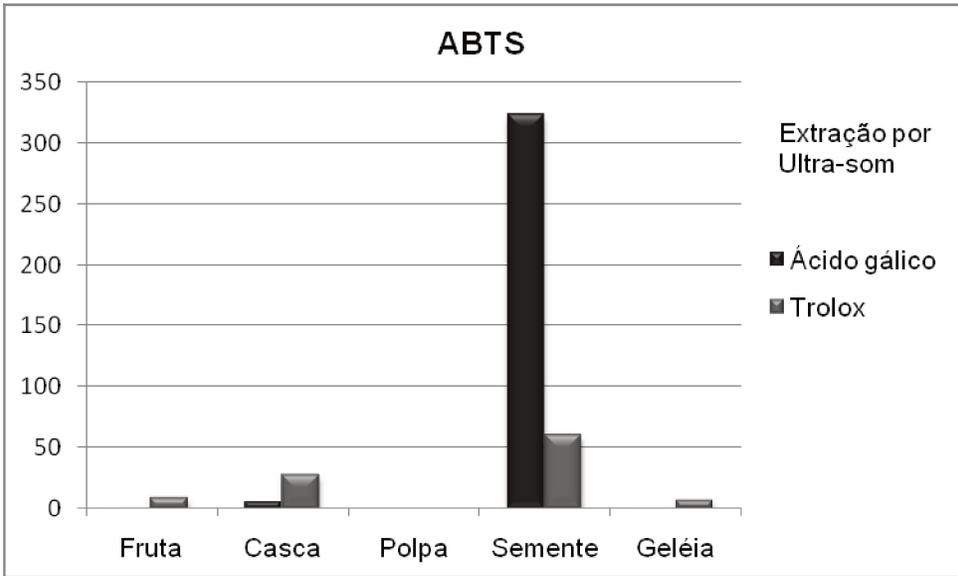
**Gráfico 14** atividade antioxidante das amostras pelo método FRAP, obtidas através das extrações por agitação e ultra-som.



**Gráfico 15** atividade antioxidante das amostras pelo método ABTS, obtidas através da extração por agitação.



**Gráfico 16** atividade antioxidante das amostras pelo método ABTS, obtidas através da extração por ultra-som.



**Gráfico 17** atividade antioxidante das amostras pelo método ABTS, obtidas através das extracções por agitação e ultra-som.

