

**CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE DA JABUTICABA  
[*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**

**ANNETE DE JESUS BOARI LIMA**

**2009**

**ANNETE DE JESUS BOARI LIMA**

**CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA  
JABUTICABA [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agroquímica, para obtenção do título de "Doutor".

Orientadora

Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Lima, Annete de Jesus Boari.  
Caracterização e atividade antioxidante da jabuticaba,  
[*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg] / Annete de Jesus Boari  
Lima. – Lavras : UFLA, 2009.  
159 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.  
Orientador: Angelita Duarte Corrêa.  
Bibliografia.

1. Jabuticaba. 2. Antocianina. 3. Constituinte químico. 4.  
Fenólicos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.42

**ANNETE DE JESUS BOARI LIMA**

**CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA  
JABUTICABA [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agroquímica, para obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 29 de maio de 2009

Profa. Dra. Rachel Oliveira Castilho UFMG

Prof. Dr. Eduardo Valério Barros Vilas Boas UFLA

Prof. Dr. Mário César Guerreiro UFLA

Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos UFLA

Prof. Dra. Angelita Duarte Corrêa  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, Célio Lacerda Boari e Terezinha de Jesus Boari, pelo amor e dedicação. Ao meu esposo, José Maria, pelo amor, ajuda, paciência e suporte incondicional. Aos meus filhos, Drielle, Elisa e Alexandre, pelo amor, convívio e ajuda e aos meus irmãos pelo carinho e suporte.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade da vida, pela força, coragem e sabedoria.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação e à Fapemig, por financiar o projeto e pela bolsa de doutorado.

À Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa, que mais que uma orientadora e incentivadora, tornou-se uma grande amiga.

Aos professores Celeste, Mário Guerreiro, Malu, Custódio, Adelir e Walclée, pelo carinho, contribuição e pelo privilégio do convívio.

Às professoras Ana Maria D. Barros e Raquel O. Castilho, da Faculdade de Farmácia da UFMG, que abriram as portas de seus laboratórios e auxiliaram-me nas análises.

Aos colegas que, como eu, integraram a primeira turma de doutorado do Departamento de Química, Abel, meu grande amigo e colaborador, Alexandre, Denise, Ellem, Fabiane, Luciene, Maraísa, Rafaela, Rafael, que se tornaram amigos queridos.

Aos amigos do laboratório, Ana Paula, Chrystian e Luciana, Maria Cristina, Mariana, Juliana, Anderson, Polyanna, Estela, Simone e Rafaella.

À Priscila, pela ajuda com os cromatogramas de massa.

À Xulita, técnica do laboratório de Bioquímica, pela amizade e ajuda; às técnicas do laboratório de Ciência de Alimentos, Tina e Sandra, pela ajuda e boa vontade em ajudar sempre.

À Miriam, secretária da Pós-graduação, pela boa vontade e eficiência no trabalho.

À técnica Cidinha, do Departamento de Biologia.

À amiga Ana Carolina Amorim, pelas análises em CG-MS, na UFRJ.

A toda equipe do Laboratório de Análise Foliar, por toda ajuda e disponibilidade.

Ao colega e amigo Luiz Gustavo e prof. Dra. Graça, pela amizade e colaboração

Ao Departamento de Ciência do Solo, pela utilização de seus laboratórios e aparelhagens e especial agradecimento ao técnico Carlinhos, pela boa vontade e sempre disponível em ajudar.

Aos professores do Departamento de Ciência do Solo, pelo carinho e amizade.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização desse trabalho, pela amizade e boa convivência.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1: .....	1
1 Introdução Geral .....	1
1.1 Objetivo Geral.....	3
1.2 Objetivos Específicos .....	3
2 Referencial Teórico.....	4
2.1 Considerações gerais .....	4
2.2 Nutrientes.....	6
2.2.1 Composição centesimal .....	7
2.2.2 Vitaminas .....	12
2.3 Antinutrientes ou compostos bioativos.....	14
2.3.1 Inibidor de tripsina .....	14
2.3.2 Saponinas .....	16
2.3.3 Lectinas.....	17
2.3.4 Polifenóis .....	19
2.3.4.1 Taninos .....	19
2.3.4.2 Flavonoides .....	20
2.3.4.3 Antocianinas.....	22
2.4 Antioxidantes e radicais livres .....	33
2.4.1 Antioxidantes na cura e prevenção de doenças .....	35
3 Referências Bibliográficas.....	38
CAPÍTULO 2: Constituintes químicos do fruto jabuticaba e suas frações: I - composição centesimal e compostos bioativos.....	47
1 Resumo.....	47

2 Abstract .....	48
3 Introdução.....	49
4 Material e Métodos .....	51
4.1 Amostras.....	51
4.2 Análises .....	51
4.2.1 Peso médio e proporção das frações no fruto.....	51
4.2.2 Composição centesimal .....	52
4.2.3 Sólidos solúveis, acidez titulável e pH .....	52
4.2.4 Compostos bioativos .....	53
5 Resultados e Discussão.....	55
5.1 Peso médio e proporção das frações no fruto.....	55
5.2 Composição centesimal .....	56
5.3 Sólidos solúveis, acidez titulável e pH .....	59
5.4 Compostos bioativos .....	60
6 Conclusão .....	64
7 Referências Bibliográficas.....	65
CAPÍTULO 3: Constituintes químicos do fruto jabuticaba e suas frações: II - açúcares, ácidos orgânicos, minerais, vitamina c e lipídeos.....	68
1 Resumo .....	68
2 Abstract .....	69
3 Introdução.....	70
4 Material e Métodos .....	72
4.1 Amostras.....	72
4.2 Análises .....	72
4.2.1 Determinação colorimétrica de açúcares .....	72
4.2.2 Preparo de amostras para determinação de açúcares e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência .....	73
4.2.3 Determinação de vitamina C.....	74

4.2.4 Determinação de minerais.....	75
4.2.5 Determinação da composição dos lipídeos .....	76
5 Resultados e Discussão.....	78
5.1 Açúcares .....	78
5.2 Ácidos orgânicos.....	81
5.3 Vitamina C.....	84
5.4 Minerais.....	85
5.5 Lipídeos .....	90
6 Conclusão .....	97
7 Referências Bibliográficas.....	98
CAPÍTULO 4: Antocianinas, estabilidade de pigmentos e atividade antioxidante em jabuticaba e suas frações.....	102
1 Resumo.....	102
2 Abstract .....	103
3 Introdução.....	104
4 Material e Métodos .....	108
4.1 Amostras.....	108
4.2 Extração e dosagem dos pigmentos antociânicos.....	108
4.3 Determinação de antocianinas totais .....	110
4.4 Estabilidade das antocianinas.....	110
4.5 Análise de antocianinas por CLAE .....	111
4.6 Avaliação da atividade antioxidante.....	112
4.6.1 Método ABTS .....	112
4.6.2 Método fosfomolibdênio.....	114
4.6.3 Método $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.....	115
5 Resultados e Discussão.....	118
5.1 Rendimento da extração dos pigmentos antociânicos .....	118
5.2 Estabilidade dos pigmentos .....	121

5.3 Determinação de antocianinas totais .....	125
5.4 Identificação e quantificação das antocianinas por CLAE .....	126
5.5 Avaliação da atividade antioxidante.....	130
5.5.1 Método ABTS .....	130
5.5.2 Método fosfomolibdênio.....	134
5.5.3 Método $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.....	134
5.5.4 Correlação entre compostos antioxidantes e atividade antioxidante .....	137
6 Conclusão .....	140
7 Referencias Bibliográficas.....	141
ANEXOS.....	146

## RESUMO GERAL

LIMA, Annete de Jesus Boari. **Caracterização e atividade antioxidante da jabuticaba, [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg].** 2009. 159p. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

A jabuticabeira, [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg], é uma planta nativa do Brasil, pertencente à família Myrtaceae e pouco se conhece sobre a composição química de seu fruto. O fruto inteiro e as frações (casca, polpa e sementes) de duas variedades de jabuticaba, Paulista e Sabará, foram analisados quanto aos seus constituintes químicos e atividade antioxidante. A casca e a semente juntas representam 50% da fruta. Os teores de proteína bruta e extrato etéreo foram relativamente baixos em todas as frações. O teor de cinzas não variou entre frações, exceto para a casca de frutos da variedade Sabará, que apresentou o maior nível. As fibras diferiram muito entre frações, não havendo diferenças entre as variedades. Quanto aos compostos bioativos, apenas os polifenóis nas cascas apresentaram teores elevados. A polpa apresentou a maior quantidade de açúcares totais, principalmente frutose e glicose, seguida pela sacarose, também encontrada na casca, sementes e no fruto inteiro. Cinco ácidos orgânicos foram encontrados na polpa e no fruto inteiro, na seguinte ordem decrescente de concentração: ácido cítrico > ácido succínico > ácido málico > ácido oxálico > ácido acético. Nas cascas e sementes, os ácidos succínico e cítrico são os majoritários. Os ácidos málico e acético estão presentes em quantidades muito reduzidas em todas as frações de ambas as variedades. Maiores quantidades de vitamina C foram encontradas na casca e sementes de ambas as variedades. Entre os minerais, o potássio foi o elemento mais abundante. A quantidade de ferro na polpa representa duas vezes as necessidades diárias recomendadas para alimentação humana. Esse fruto também se mostrou rico em magnésio, fósforo, cálcio e cobre. O óleo da fração semente, caracterizado por cromatografia CGAR-EM, tem constituição muito parecida com o óleo da casca em ambas as variedades. Os principais compostos foram um fitoesterol, não identificado, seguido dos ácidos palmítico, linoleico e oleico, além de esqualeno. Vários solventes foram testados para a extração de pigmentos antocianicos, para a avaliação da estabilidade dos pigmentos, quantificação das antocianinas totais, análise das antocianinas por CLAE e realização de testes antioxidantes. A melhor extração de antocianinas foi obtida por maceração da amostra com etanol 95% e/ou etanol 50%, acidificados com

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Dra. Angelita Duarte Corrêa- UFLA (orientadora), Dra. Ana Maria Dantas Barros-UFMG e Celeste Maria Patto de Abreu-UFLA (coorientadoras)

HCl  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ , na proporção 85:15, usando a proporção 1:15 (1g amostra: 15 mL de solvente). A fração casca mostrou ser rica em antocianinas e teve o cianidina-3-glicosídeo como principal pigmento, seguido por delphinidina-3-glicosídeo, também presente na polpa. A fruta mostrou atividade antioxidante pelo teste de captura de radicais livres (ABTS), capacidade antioxidante (Método do fosfomolibdênio) e retardo no processo de oxidação de gordura (Ensaio de auto-oxidação utilizando ácido linoleico ou método  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico). Pelos resultados dos testes verificou-se que a fruta apresenta elevada atividade antioxidante, principalmente as cascas, que são ricas em polifenóis e antocianinas. A melhor correlação ocorreu entre os polifenóis e o teste ABTS. O estudo demonstrou que as frações da jabuticaba podem ser utilizadas como aditivo na indústria alimentícia e cosmética, com possíveis benefícios à saúde do consumidor.

## GENERAL ABSTRACT

LIMA, Annete de Jesus Boari. **Chemical characterization and antioxidant activity of jaboticaba's fruit and its fraction [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**. 2009. 159p. Thesis (Doctor in Agrochemistry) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>2</sup>

The Jaboticaba tree, [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg], is a native plant of Brazil, belonging to Myrtaceae family of which very little is known about the chemical composition of its fruit. In this work, the whole fruit and fractions (skin, pulp and seeds), of two varieties, Paulista and Sabará, were analyzed as to the chemical constituents and the antioxidant activity. The skin and seed together represent approximately 50% of the fruit. Protein and ether extracts were found at low levels in all fractions. Ash content did not vary among fractions, except for the Sabará fruit skin, which presented the highest amount. Dietary fiber differed widely among fractions, with no differences between varieties. Regarding the bioactive compounds, only polyphenols in the skin presented high levels. Pulp fractions presented the highest amounts of total sugar, mainly fructose and glucose followed by sucrose, which are also found in the skin, seed fractions and in the whole fruit. Five organic acids were found in the pulp fractions and in the whole fruit: citric acid > succinic acid > malic acid > oxalic acid > acetic acid. In skins and seeds, the succinic and citric acids appeared as majority acids. The malic and acetic acids are present in very low quantities in all the fractions of both varieties. Larger quantities of vitamin C were found in the skin and seed fractions of both varieties. Among the minerals, potassium was the most abundant element. The amount of iron in the pulp was twice the daily recommended dose for human nutrition. This fruit also showed to be rich in magnesium, phosphorus, calcium, and copper. The seed-fraction oil, characterized by GC-MS chromatography, presents almost the same composition in the skin fractions of both varieties. The majority compound was a non-identified phytosterol, followed by the palmitic, linoleic, oleic acids and squalene. Several solvents were tested for anthocyanic-pigment extraction in order to evaluate the pigment stability, to quantify total anthocyanins, HPLC anthocyanins analysis and antioxidant tests. The best extractability was achieved by the maceration of the sample with 95 % ethanol and/or 50 % ethanol,

---

<sup>2</sup> Guidance Committee: Dra. Angelita Duarte Corrêa- UFLA (adviser), Dra. Ana Maria Dantas Barros-UFMG e Celeste Maria Patto de Abreu-UFLA (co-advisers)

acidified with HCl 1.5 mol L<sup>-1</sup>; using a proportion of 1:15 (1g of sample to 15 mL of solvent). The skin fraction showed to be rich in anthocyanins and had the cyaniding-3-glucoside as the principal pigment, followed by delphinidin-3-glucoside, which was also present in pulp fractions. The fruit showed to have antioxidant activity, by the free-radical capture test (ABTS) antioxidant capacity (phosphomolibdenium-test) and delayed-fat oxidation process ( $\beta$ -caroten/linoleic-acid bleaching assay). According to these results the fruit has high antioxidant activity, specially the skins that are rich in polyphenols and anthocyanins. The best correlation occurs between polyphenols and the ABTS test. The study demonstrated that the jaboticaba fractions can be utilized in the food industry as additives, as well as in the cosmetic industry, with possible benefit to consumer health.

## **CAPÍTULO 1**

### **1 INTRODUÇÃO GERAL**

A natureza tem fornecido um número expressivo de substâncias orgânicas, sendo os organismos do reino vegetal os principais contribuintes. O potencial de fornecimento de novas substâncias se deve à capacidade de esses organismos biossintetizarem os mais variados tipos de estruturas moleculares. Essas substâncias participam diretamente das interações bioquímicas de convivência e comunicação entre as plantas e os vários organismos vivos no sistema ambiental. Ao longo do processo evolutivo, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa química para sua sobrevivência, como o desenvolvimento de rotas biossintéticas, hoje conhecidas como metabolismo secundário, para produção de substâncias nocivas e tóxicas aos inúmeros parasitas e predadores, bem como substâncias transportadoras de informações para a sua proteção.

Metabólitos secundários são compostos moleculares evolutivamente selecionados para conferir vantagens adaptativas às plantas, como atuar nos papéis de agentes de defesa para combate a organismos patogênicos, insetos fitófagos e herbívoros predadores e de agentes de competição para modificação do comportamento germinativo e do crescimento de espécies vegetais estranhas. A capacidade estimulatória de tais compostos também é destacada, visto que podem servir para atrair animais polinizadores e dispersores de sementes, promovendo, assim a perpetuação de uma dada espécie. Alcaloides, terpenos, esteroides, flavonoides, cumarinas, xantonas, lignanas, fenilpropanoides, acetofenonas, cromanos, quinonas, derivados do ácido benzoico e da acetofenona são classes representativas de metabólitos secundários de plantas.

A jabuticabeira é uma árvore frutífera de ocorrência espontânea em grande parte do Brasil. De origem sul-americana (brasileira), essa espécie é

encontrada com mais frequência nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná. Embora popular em todo o País, a jabuticaba não chega a ter valor comercial muito alto, por ser muito perecível. Apesar de ser grande a produção de um único pé, depois de colhida, a fruta tem uma vida útil de até três dias, o que prejudica sua comercialização.

A fruta pode ser consumida ao natural ou em forma de geleias. A polpa fermentada produz licor, vinho e vinagre. Normalmente, as cascas e sementes são desprezadas na fabricação de geleias de jabuticaba, sendo as sementes utilizadas apenas para a formação de mudas.

Assim, o conhecimento dos constituintes dessas frações leva a um melhor aproveitamento da fruta, agregando-lhe valor. As cascas, por exemplo, ricas em pigmentos, poderão ser utilizadas na indústria alimentícia como corante e antioxidantes, reduzindo o uso de conservantes artificiais. O estudo de frutas nativas ou típicas do Brasil representa uma contribuição relevante, visto que contribui para uma melhor exploração de espécies nacionais que podem incentivar novas atividades econômicas.

Poucos estudos são encontrados na literatura quanto aos constituintes químicos, sobretudo os compostos bioativos, principalmente em relação às frações da fruta; as poucas publicações são de abrangência local. Além disso, a busca por alimentos funcionais, fontes naturais de substâncias antioxidantes e formas eficientes de extração dessas substâncias motivam grandes investimentos por parte da indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética e desperta o interesse de pesquisadores, principalmente em países mais desenvolvidos, sendo hoje objeto de intensa pesquisa.

## **1.1 Objetivo Geral**

Foram estudados neste trabalho o fruto inteiro e as frações casca, polpa e semente de duas variedades de jabuticaba, quanto aos seus constituintes químicos, identificando-os e quantificando-os, com a finalidade de assegurar o seu uso em preparações dietéticas, produtos industrializados e formulações de novos produtos, promovendo um maior aproveitamento dessa fruta, agregando-lhe, assim, valor.

## **1.2 Objetivos Específicos**

- Determinar o peso médio e as respectivas proporções das frações que constituem o fruto inteiro, a composição centesimal, os sólidos solúveis totais, a acidez total titulável e o pH;
- Determinar os antinutrientes ou compostos bioativos;
- Quantificar os açúcares por colorimetria e por técnica cromatográfica;
- Identificar os ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);
- Quantificar os minerais e a vitamina C;
- Determinar a composição química do óleo extraído da casca e da semente por Cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas (CGAR-EM);
- Eleger o melhor método de extração para quantificar antocianinas totais;
- Verificar a estabilidade das antocianinas na presença e ausência de luz e tempo de armazenamento do extrato;
- Identificar e quantificar antocianinas por CLAE;
- Determinar a atividade antioxidante por diferentes métodos

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Considerações gerais

A jabuticabeira é uma árvore perene de grande rusticidade e longevidade. Comumente demora a dar os primeiros frutos, que se formam diretamente no tronco. Sua madeira apresenta elevada dureza, sendo utilizada no preparo de vigas, esteios, dormentes e outras obras (Gomes, 1987); apresenta folhas opostas, lanceoladas e vermelhas quando novas flores brancas e sésseis. Seus frutos, muito apreciados também por pássaros e animais silvestres, são do tipo baga globosa de até 3 cm de diâmetro, com casca preta-avermelhada, variedades verde-claras e verde-bronzeadas e com listras roxas ou vermelhas. A polpa, esbranquiçada mucilagínosa, agridoce, apresenta comumente uma única semente, podendo, no entanto, apresentar até quatro (Gomes, 1987). A jabuticaba pode ser consumida ao natural ou como geleias. Sua polpa fermentada produz licor, vinho e vinagre. Sua casca é adstringente, sendo útil contra diarreia e irritações de pele, possuindo também indicações na medicina popular contra asma, inflamação dos intestinos e hemoptise (Herbário, 2006).

Os nomes vulgares e a classificação botânica ainda não são bem elucidados, havendo divergências entre autores. Segundo Mattos (1983), Berg (1857) classificou como *Myrciaria cauliflora* (DC) Berg as jabuticabeiras encontradas em Minas Gerais e no Rio de Janeiro. Seus nomes vulgares são “jabuticaba paulista”, “jabuticaba pohnema” e “jabuticaba-açu”. *M. jaboticaba* (Vell) Berg seriam as frutas nativas nas regiões do Rio de Janeiro e São Paulo, cujos nomes vulgares são “jabuticaba Sabará” ou ainda “jabuticaba-de-cabinho”, tendo sido este último atribuído por Rodrigues (1894). Há, ainda, a *M. trunciflora* e outras, como mostrado na Tabela 1. Já Gomes (1987) prefere seguir o Guia do Fruticultor Brasileiro da Editora Dierberger Agrícola Ltda., que

classifica como *M. cauliflora* as espécies mais difundidas no Brasil, reconhecendo cinco variedades adaptadas às regiões de maior ocorrência:

- Jabuticaba Sabará: a mais apreciada doce e mais intensamente cultivada. Apresenta crescimento médio, muito produtiva, com frutos pequenos, epicarpo fino, maturação precoce e muito saborosa;

- Jabuticaba Paulista: apresenta maior porte e produtividade, fruto grande e coriáceo e maturação tardia;

- Jabuticaba Rajada: assemelha-se às outras em crescimento e produção, apresentando frutos grandes e muito saborosos. A casca é verde-bronzeada e de maturação mediana;

- Jabuticaba Pohnema: tem uma árvore de grande porte e produção, com frutos grandes e casca um tanto coriácea, devendo ser consumida quando bem madura.

- Jabuticabeira Branca: Porte médio. Produz fartamente, frutas grandes e saborosas de coloração verde-clara.

Neste trabalho, foram estudadas as variedades Paulista e Sabará, que correspondem, respectivamente, às espécies *M. cauliflora* (DC) Berg e *M. jaboticaba* (Vell) Berg, segundo Mattos (1983) e Berg (1857).

TABELA 1 Principais espécies de jabuticabas, nomes vulgares e origem e/ou ocorrência

<b>Espécie</b>	<b>Nome vulgar</b>	<b>Origem e distribuição geográfica</b>
<i>Myrciaria jaboticaba</i>	Sabará	RJ, SP – Brasil, Paraguai, Argentina
<i>M. cauliflora</i> (DC) Berg	Paulista, Pohnema, Açú	MG, RJ – Brasil
<i>M. spirito-santensis</i> Mattos	----	ES – Brasil
<i>M. coronata</i> Mattos	Jabuticaba de coroa coroadada	Ignorada – SP
<i>M. oblongata</i> Mattos	Jabuticaba azeda	Ignorada – SP
<i>M. peruviana var. trunciflora</i>	Jabuticaba de cabinho	Ignorada – (MG até I Paraguai, Argentina)
<i>M. aureana</i> Mattos	Jabuticaba branca	Ignorada – SP

Fonte: Mattos (1983).

## 2.2 Nutrientes

Os constituintes dos alimentos fundamentais à sobrevivência dos seres humanos e animais estão divididos em macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios) e micronutrientes (vitaminas, minerais), além de conterem água e fibras alimentares, as quais apesar de não serem consideradas nutrientes, são essenciais à manutenção da boa saúde.

Para que a população consuma equilibradamente esses componentes de acordo com a ingestão diária recomendada (IDR), são necessários dados sobre a composição dos alimentos. Essa composição é importante para inúmeras atividades, como para avaliar o suprimento e o consumo alimentar de um país, verificar a adequação nutricional da dieta de indivíduos e de populações, avaliar o estado nutricional, desenvolver pesquisas sobre as relações entre dieta e doenças, em planejamento agropecuário, na indústria de alimentos, no

aproveitamento de vegetais que, normalmente, não são consumíveis pela indústria alimentícia, além de outras.

As necessidades dos seres humanos de carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas, minerais e fibra alimentar precisam estar em equilíbrio. Esses elementos têm como principal função a formação e regeneração de tecidos, assim como desempenham funções estruturais e energéticas e funções nobres, como as de catalisadores biológicos, transportadores de nutrientes e metabólitos, defensores do organismo (anticorpos) e controladores do metabolismo (hormônios), entre outras (Tavares, 2001).

### **2.2.1 Composição centesimal**

A obtenção de dados referentes à composição de alimentos brasileiros tem sido estimulada com o objetivo de reunir informações atualizadas, confiáveis e adequadas à realidade nacional.

A composição centesimal corresponde à proporção dos grupos homogêneos de substâncias, presentes em 100 g de um alimento, exprimindo de forma grosseira o seu valor nutritivo. Os grupos homogêneos de substâncias são aqueles compostos que se encontram em praticamente todos os alimentos, como: umidade, lipídios ou extrato etéreo, proteína bruta, fibra bruta, cinzas ou resíduos minerais fixos, fração glicídica ou ENN (extrato não nitrogenado) (Vilas Boas, 2004).

#### **a) Proteínas**

As proteínas exercem funções vitais ao organismo, sendo alguns aminoácidos considerados essenciais, por não serem sintetizados pelo organismo, devendo ser obtidos por meio da alimentação.

De modo geral, as frutas não são ricas em proteínas, apresentam em média 1%, sendo as cascas mais ricas que as partes comestíveis (Gondim et al.,

2005). Ascheri et al. (2006) encontraram 4,17 g de proteínas em 100 g<sup>-1</sup> de farinha de bagaço de jabuticaba (matéria seca) e a Tabela Brasileira de Alimentos, TACO (2006) apresenta um valor de 0,6 g 100 g<sup>-1</sup> para a polpa.

#### **b) Extrato etéreo**

O extrato etéreo inclui, além das gorduras, substâncias solúveis em éter. A fração lipídica inclui os ácidos graxos livres, mono, di e triacilgliceróis, algumas substâncias mais polares, como os glicolipídeos e fosfolipídeos. Esteróis, pigmentos lipossolúveis, ceras, resinas e vitaminas também podem ser extraídos (Cecchi, 2001).

Nas frutas, os maiores teores de lipídeos são encontrados nas cascas e sementes. O abacate é um fruto rico em lipídeos, apresentando 8 g 100 g<sup>-1</sup> na polpa e 11 g 100 g<sup>-1</sup> na casca (Gondim et al., 2005). A jabuticaba, como a maioria das frutas, tem teor de lipídeos abaixo de 1%, em todas as frações do fruto (TACO, 2006).

De modo geral, entre os ácidos graxos saturados mais importantes obtidos pela hidrólise de gorduras e óleos, encontram-se o ácido láurico, palmítico e o esteárico. Dos ácidos graxos insaturados, os mais importantes são os ácidos oleico, linoleico, linolênico e araquidônico. Não foram encontrados na literatura estudos sobre os constituintes da fração lipídica da jabuticaba.

#### **c) Fibra alimentar**

A fibra alimentar tem sido amplamente estudada nos últimos anos em razão dos seus efeitos benéficos sobre o organismo humano. A American Association of Cereal Chemists, AACC (1995) descreve fibra alimentar como sendo o “remanescente da parte comestível de plantas e carboidratos análogos, que são resistentes à digestão e à absorção no intestino delgado de humanos, com completa ou parcial fermentação no intestino grosso”. Isso inclui

polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina e substâncias associadas. A fibra alimentar exibe pelo menos um dos seguintes efeitos: laxativo (formação e amaciamento da massa fecal); frequência de trânsito regulada, atenuante do colesterol sanguíneo e/ou atenuante da glicose sanguínea (Prosky, 1999).

A fibra alimentar é dividida em fração insolúvel (celulose, hemicelulose, lignina e amido resistente) e solúvel (hemiceluloses solúveis, pectinas, gomas e mucilagens), as quais exercem diferentes funções no organismo humano. Fibras insolúveis como a celulose, encontrada nas paredes celulares de plantas, ajudam a dissipar e remover toxinas, por meio de vários mecanismos (American Dietetic Association, ADA, 2008). A fibra insolúvel, por ter capacidade de reter água, causa aumento no volume fecal e na pressão osmótica, diminuindo o tempo de passagem do alimento pelo trato gastrointestinal. A fibra solúvel tem alta capacidade de fixar substâncias orgânicas e inorgânicas, sequestrando os sais biliares, o que acarreta um aumento de sua excreção e, conseqüentemente, uma redução na sua circulação enteropática. Com isso, o organismo tenta suprir o déficit de sais biliares, sintetizando-os a partir de suas reservas de colesterol (Márques, 2001).

A fermentabilidade da fibra alimentar no intestino grosso é de grande importância. Nessa etapa, as moléculas são quebradas por bactérias intestinais em hexoses, pentoses e álcoois, que não são absorvidos nessa região do intestino, sendo utilizados como substrato para outras bactérias, produzindo água, gases hidrogênio e metano, ácidos láctico, acético, propiônico e butírico, com produção de energia. Desse modo, a massa bacteriana é consideravelmente aumentada, bem como a massa fecal. O butirato apresenta um efeito trófico sobre a membrana intestinal, visto que estimula a proliferação de enterócitos tanto no jejuno, quanto no íleo e no cólon, exercendo um efeito preventivo no desenvolvimento de câncer (Márques, 2001).

A ingestão diária de baixos teores de fibra alimentar leva a constipação intestinal, aumento do risco de doenças coronarianas e aumento dos níveis sanguíneos de glicose e insulina.

A ingestão de frutas e vegetais ricos em fibras são benéficos à saúde humana. O Food and Drug Administration (FDA) determinou um valor diário de 25 g de fibras para uma dieta de 2.000 calorias, sendo considerado satisfatório o consumo de 5 g de fibras em cada refeição (ADA, 2008).

Muitas frutas são consideradas boas fontes de fibras, por apresentarem de 2% a 3% de fibras totais. A jabuticaba apresenta teor de fibra alimentar de 2,4 g 100 g<sup>-1</sup> (TACO, 2006).

#### **d) Cinzas**

As cinzas correspondem à fração inorgânica ou mineral de um alimento.

Todas as formas de matéria viva precisam de vários elementos inorgânicos para seus processos vitais normais. Os elementos minerais reconhecidos como essenciais são comumente divididos entre macrominerais (cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio, enxofre) e microminerais (ferro, cobre, cobalto, manganês, zinco, iodo, flúor, molibdênio, selênio, cromo, silício), de acordo com as quantidades maiores ou menores em que são encontrados no organismo humano. A importância de sua inclusão na dieta tem sido amplamente discutida em textos sobre nutrição (Sgarbieri, 1987).

Os minerais regulam a atividade de diversas enzimas, o equilíbrio ácido-base, a pressão osmótica, a atividade muscular e nervosa, facilitam a transferência de compostos essenciais através das membranas e, em alguns casos, fazem parte dos elementos constituintes dos tecidos do organismo (Shils et al., 1994).

Os nutrientes minerais ou inorgânicos encontram-se inter-relacionados e em mútuo equilíbrio na fisiologia humana, não podendo ser considerados como

elementos isolados com funções circunscritas. Assim como as proteínas, carboidratos, lipídios e vitaminas não desempenham papéis independentes e autossuficientes no funcionamento geral do organismo. Cálcio, magnésio e fósforo, por exemplo, estão em relação definida na formação de ossos e dentes, coagulação do sangue e manutenção do ritmo cardíaco normal. Ferro, cobre e cobalto (na vitamina B12) acham-se interligados na síntese de hemoglobina e na formação das células vermelhas do sangue. Sódio, potássio, cálcio, fósforo e cloro servem a propósitos individuais e coletivos nos fluidos orgânicos. Cálcio e magnésio são necessários para a função normal das partes moles e funcionamento nervoso e muscular. Iodo é um componente essencial do hormônio da tireóide, enquanto zinco, molibdênio e manganês servem como ativadores essenciais de uma série de reações metabólicas catalisadas por enzimas (Burton, 1979).

Segundo Gondim et al. (2005), as frutas são consideradas as principais fontes de minerais na dieta humana, sendo nas cascas encontrados teores mais elevados que nas partes comestíveis. Sato & Cunha (2007) encontraram 0,34% de cinzas, estudando o comportamento reológico da polpa de jabuticaba Sabará. Já Ascheri et al. (2006) encontraram 1,35% de cinzas na farinha de bagaço de jabuticaba, sendo o potássio o mineral mais abundante, seguido por ferro, fósforo, magnésio, cálcio e zinco.

#### **e) Fração glicídica**

A fração glicídica ou ENN (extrato não nitrogenado) constitui a fração de carboidratos do alimento, com exceção da fração fibra. É a fonte de energia mais prontamente disponível dos alimentos, constituída principalmente por amido, nos cereais e legumes, por açúcares como a glicose, frutose e sacarose nos frutos e lactose no leite. É calculada da soma das outras frações, subtraídas de cem (Vilas Boas, 2004).

### **2.2.2 Vitaminas**

As vitaminas constituem um grupo de compostos orgânicos essenciais para o metabolismo normal de outros nutrientes e a manutenção do bem-estar fisiológico, sendo indispensáveis ao crescimento e às funções normais dos animais superiores.

Esses compostos não são sintetizados pelo organismo, devendo ser obtidos pela alimentação. São encontrados em quantidades variadas em alimentos diferentes; porém, nenhum alimento contém todas elas em quantidades suficientes para satisfazer os requisitos humanos em condições normais de alimentação (Burton, 1979).

O termo vitamina derivou de experimentos realizados por Casimir Funk, da Polônia, que sugeriu que quatro doenças – escorbuto, pelagra, beribéri e raquitismo – desenvolviam-se na deficiência de “aminas vitais” da dieta. Com base nessa expressão, se cunhou-se o termo vitamina (Marzzoco & Torres, 2007).

Uma importante vitamina para a nutrição humana é a vitamina C, cuja necessidade é suprida por frutas e vegetais. O L-ácido ascórbico (AA) é a principal forma biologicamente ativa da vitamina C. AA é reversivelmente oxidado a ácido L-dehidroascórbico (DHA), que também exibe atividade biológica.

A vitamina C está envolvida na formação dos hormônios esteroides, na hidroxilação do triptofano e na síntese da serotonina, sendo necessária também no processo de indução ao sono e relaxamento. A vitamina C participa da regulação da síntese de colágeno, carnitina e colesterol, aumenta a absorção de ferro dos alimentos de origem vegetal, melhora a função imunológica, tem atividade antioxidante, protege a vitamina E recupera a vitamina, quando oxidada entre outras (Fett, 2002).

Esse nutriente é um dos mais sensíveis às condições de processamento e de armazenagem, e a sua degradação está relacionada com diversos fatores, como: oxigênio, pH, luz, temperatura e conteúdo de umidade ou atividade de água (aw) e tem sido tema de diversos trabalhos (Gabas et al., 2003).

Vários métodos para determinação de vitamina C têm sido usados. Nos métodos oficiais (Association of Official Agricultural Chemists, AOAC, 2005), a determinação baseia-se na titulação do AA com 2,6-diclorofenolindofenol em soluções ácidas, o que não é aplicável em todas as matrizes, pois substâncias como taninos, betaínas e compostos sulfidrílicos são oxidados pelo corante (Hernández et al., 2006).

As técnicas por separação são as mais utilizadas: eletroforese capilar e cromatografia gasosa e líquida. Para aumentar a sensibilidade para DHA, derivatização antes ou depois da separação cromatográfica é necessária. A extração da amostra é muito importante na determinação de vitamina C. Enzimas podem destruir a vitamina durante a extração, além de impedir o equilíbrio redox AA/DHA.

Como as frutas contêm grande quantidade de compostos interferentes, cuidados devem ser tomados no desenvolvimento de métodos para tipos específicos de plantas.

O AA é rapidamente oxidado em condições alcalinas; assim, a utilização de solventes acidificados é necessária na prevenção da oxidação, mas, por outro lado, pode causar sérias interações analíticas em colunas à base de sílica (RP-C18 ou NH<sub>2</sub> em fase ligada), podendo resultar em flutuações da linha-base e tempo de retenção (Hernández et al., 2006).

Segundo a TACO (2006), a polpa de jabuticaba apresenta um teor de vitamina C de 16,2 mg 100g<sup>-1</sup>; de tiamina de 0,06 mg 100g<sup>-1</sup> e de apenas traços de riboflavina, niacina e piridoxina.

### **2.3 Antinutrientes ou compostos bioativos**

São chamadas de antinutritivas aquelas substâncias que, de alguma forma, provocam a destruição de nutrientes essenciais ou prejudicam o organismo alterando a digestão, a absorção e o metabolismo (Araújo, 2004). Alguns vegetais têm a capacidade de sintetizar uma extensão de produtos químicos que originam reações tóxicas quando ingeridas pelo homem e por animais. No decorrer do tempo, o homem aprendeu por experiência a evitar plantas causadoras de envenenamento agudo e, assim, desenvolveu métodos para reduzir ou eliminar a toxicidade (Tavares, 2001).

Essas substâncias hoje são chamadas de compostos bioativos, porque, apesar de poderem provocar danos à saúde, algumas apresentam capacidade antioxidante ou terapêutica. Podem estar presentes naturalmente em alimentos crus e nos inadequadamente processados, como inibidores de tripsina, lectinas, bociogênicos, ácido oxálico, etc., e mesmo presentes nos alimentos cozidos e inadequadamente processados, como os nitratos, fitatos, estrogênicos e outros (Barcelos, 2004).

#### **2.3.1 Inibidor de tripsina**

Inibidores de enzimas digestivas são substâncias químicas (a maioria proteínas) presentes nos tecidos vegetais, como sementes, raízes e outros e em animais como, por exemplo, na clara de ovo, cuja função básica é de defesa do tecido contra agentes prejudiciais ao desenvolvimento normal do vegetal ou animal (insetos predadores e micro-organismos). Essas substâncias, quando ingeridas, inibem a ação de enzimas importantes para o metabolismo normal do organismo do homem (Genovese & Lajolo, 2000).

Inibidores de tripsina são encontrados em toda a família Fabaceae (soja, amendoim, feijões), cereais (trigo, cevada, centeio) e também na família Solanaceae (batata) (Liener, 1989).

Os inibidores de proteases são, na sua maioria, proteínas que inibem as enzimas que digerem proteínas e as transformam em aminoácidos. São capazes de inibir as atividades da tripsina, quimotripsina e carboxipeptidase e também a amilase, que degrada o amido. Tripsina, quimotripsina e carboxipeptidase são enzimas digestivas produzidas pelo pâncreas na forma de seus zimogênios enzimaticamente inativos: tripsinogênio, quimotripsinogênio e procarboxipeptidase e levados até o intestino, quando se tornam ativas e realizam a digestão das proteínas (Barcelos, 2004).

A estabilidade térmica dos inibidores de proteases depende de seu peso molecular e do grau de estabilização da conformação ativa por pontes de dissulfeto. O inibidor de Bowman-Birk da soja é mais estável ao calor e às variações de pH do que o inibidor de Kunitz, devido às diferenças de tamanho e número de ligações dissulfeto.

O inibidor de Kunitz combina estequiometricamente com a tripsina, formando um complexo enzima-inibidor análogo ao complexo enzima-substrato, bloqueando a ação das enzimas tripsina e quimotripsina, resultando em aumento excessivo da concentração plasmática do hormônio colecistoquinina. Dessa forma, o pâncreas é continuamente estimulado a liberar mais enzimas, provocando a hipertrofia pancreática e a redução da taxa de crescimento do animal ou homem por perdas endógenas de aminoácidos essenciais que são eliminados nas fezes.

Na nutrição humana, entretanto, tais fatores antinutricionais têm pequena consequência, visto que esses inibidores são termolábeis e geralmente são destruídos nas condições normais de preparo dos alimentos (doméstico ou industrial). Com o aquecimento, a inativação dos inibidores provavelmente ocorre por desnaturação, com rearranjo de pontes de dissulfeto, importantes na manutenção da integridade dos sítios de ligação (Burns, 1987).

### 2.3.2 Saponinas

Quimicamente, saponinas são glicosídeos de triterpenos e esteroides. Apresentam estrutura com uma parte lipofílica (aglicona ou sapogenina), constituída por triterpenos ou esteroides, e outra parte hidrofílica, composta por açúcares. Têm alto peso molecular, entre 600 e 2.000, e de modo geral, ocorrem em misturas complexas devido à presença simultânea de estruturas com número variado de açúcares ou, ainda, devido à presença de diversas agliconas (Schenkel et al., 2007 b). O termo saponina é aplicado a um grupo de substâncias naturais que apresentam em comum o gosto amargo e a propriedade de formar espumas quando agitadas com água. A espuma formada é estável à ação de ácidos minerais diluídos, diferenciando-a daquela dos sabões comuns. Essa propriedade é a mais característica desse grupo de compostos, da qual deriva seu nome (do latim *sapone* = sabão) (Schenkel et al., 2007 b).

Por apresentarem diversas propriedades biológicas, saponinas também são substâncias de interesse farmacêutico. Tem ação sobre a redução do colesterol do plasma humano, por formar mistelas no intestino delgado com ácidos biliares, evitando, assim, sua reabsorção (Stark & Madar, 1993).

Saponinas têm a propriedade de baixar a tensão superficial da água, sendo extremamente tóxicas para animais de sangue frio, como peixes e anfíbios, por promoverem uma desorganização das células das brânquias (ação ictiotóxica) e das membranas das células sanguíneas (ação hemolítica). Sua ação lipofílica facilita a complexação com esteroides, proteínas e fosfolípidios das membranas celulares, alterando a permeabilidade das membranas e causando sua destruição. Apresentam ação antifúngica e hipocolesterolemiantes, por induzir uma adsorção dos ácidos biliares, o que diminui o nível do colesterol sérico (Schenkel et al., 2007b). As saponinas presentes em legumes atuam sobre determinadas células, aumentando a produção de anticorpos contra determinadas doenças virais (Mendoza, 2009).

São componentes importantes para a ação de muitas drogas vegetais, destacando-se aquelas utilizadas como expectorantes e diuréticas. As saponinas esteroidais têm sido utilizadas há muito tempo como precursores de medicamentos esteroidais, tais como hormônios sexuais, corticoides e contraceptivos orais. Outros empregos farmacêuticos destacados são como adjuvantes para aumentar a absorção de outros medicamentos através do aumento da solubilidade ou interferência nos mecanismos de absorção e como adjuvante para aumentar a resposta imunológica. A fervura prolongada pode diminuir ou destruir a eficácia das saponinas (Martins et al., 1995).

### **2.3.3 Lectinas**

Lectinas (hemaglutininas) são definidas como proteínas de natureza não imune, ou seja, não pertencem ao sistema imunológico. No entanto, são capazes de reconhecer sítios específicos em moléculas e se ligarem reversivelmente a carboidratos específicos na superfície de membranas (sacarídicos ou glicoproteicos) sem alterar a estrutura covalente das ligações glicosídicas dos sítios. Devido a essa propriedade, as lectinas podem se ligar a certos componentes da membrana das células sanguíneas, provocando hemaglutinação. Daí serem denominadas hemaglutininas. Posteriormente, descobriu-se que essas interações ocorrem também com glóbulos brancos ou com outros tipos de células. Tem ainda a capacidade de estimular a divisão de alguns tipos de células (mitogênese).

A especificidade das lectinas com relação a diferentes carboidratos possibilita sua utilização em pesquisas na área biológica e médica, tais como investigação da superfície de células, caracterização de eritrócitos, como agentes mitogênicos, caracterização de estágios de desenvolvimento de microorganismos diversos, purificação de glicoproteínas, morfologia de neurônios e identificação de conexões neurais no sistema nervoso central.

Lectinas estão presentes principalmente em leguminosas e gramíneas, podendo ser encontradas também em animais. Suas funções nas plantas podem ser variadas e parecem ter relação com os estágios de maturação e germinação das sementes, assim como nos mecanismos de defesa da planta contra ataques de fungos (Sgarbieri, 1996).

A toxicidade das lectinas está na sua habilidade de ligação a certos açúcares de superfícies de determinadas células, acarretando efeitos danosos quando certos alimentos são ingeridos crus, o que é confirmado por ensaios com animais de laboratório, tais como:

- Perda de peso e inibição do crescimento pela diminuição da absorção de nutrientes nos intestinos;
- Hiperplasia celular;
- Inibição de dissacaridases e proteases no intestino;
- Mudanças degenerativas no fígado e rins;
- Má absorção de ferro e lipídios da dieta devido a ligações dessas toxinas a membranas das microvilosidades intestinais, provocando a degradação de células, vilosidades e outros.

Alterações frequentes surgidas em animais experimentais são: aparecimento de inflamação intensa com destruição das células do epitélio, edema, hiperemia, hemorragia em tecidos linfáticos, degeneração gordurosa e necrose do fígado e lesões do miocárdio e sistema vascular. Entretanto, nem todas as lectinas são tóxicas ou possuem efeito inibitório sobre o crescimento de animais. A toxicidade e a resistência térmica das lectinas são bastante variáveis entre espécies de leguminosas e mesmo entre variedades de uma mesma espécie (Sgarbieri, 1996). Os efeitos tóxicos podem ser eliminados por tratamento térmico úmido, promovendo a desnaturação da proteína (calor seco é pouco efetivo), pela germinação do grão e pela alteração genética da planta (algumas cultivares apresentam teores muito menores).

### **2.3.4 Polifenóis**

Os polifenóis abrangem uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas simples e complexas. São metabólitos secundários, largamente distribuídos na natureza, que participam do mecanismo de defesa da planta, protegendo-a contra ataques de bactérias, vírus, fungos e outros, semelhante ao sistema imunológico dos animais. São substâncias que não podem ser sintetizadas por animais e humanos, sendo consumidos através de dieta alimentar. São descritos como fenóis, ácidos fenólicos e derivados, ligninas, taninos e flavonoides e estão presentes nos alimentos de origem vegetal, como folhas, cereais, leguminosas e frutas em geral e bebidas, como chás, café e vinho tinto (Schenkel et al., 2007 a).

Compostos fenólicos são sintetizados via ácido chiquímico e acetil CoA, constituindo vários caminhos metabólicos a partir da D-glicose.

#### **2.3.4.1 Taninos**

Taninos são substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 500 e cerca de 3.000 Dalton, com capacidade de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas. São importantes componentes gustativos, responsáveis pela adstringência de muitos frutos, vinhos e produtos vegetais (Deshpande et al., 1986). A complexação entre taninos e proteínas é a responsável pelo controle de insetos, fungos e bactérias, bem como pelas suas atividades farmacológicas e pelos seus usos industriais, como na manufatura do couro. Os taninos encontram-se amplamente distribuídos nas plantas superiores, ocorrendo em aproximadamente 30% das famílias. Seus efeitos prejudiciais na dieta parecem estar relacionados com suas interações com proteínas alimentares, formando complexos responsáveis pelo comprometimento do crescimento, baixa digestibilidade proteica e aumento do

nitrogênio fecal. Os taninos também inibem enzimas, como a tripsina e amilases e participam de reações de escurecimento enzimático (Sgarbieri, 1996).

Os taninos são classificados segundo sua estrutura química em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Os primeiros são sintetizados a partir do ácido gálico (rota do ácido chiquímico), enquanto os condensados, juntamente com os flavonoides, são sintetizados a partir de duas rotas biossintéticas: a do ácido chiquímico e a do acetyl CoA, via ácido malônico e estão presentes na fração fibra alimentar de diferentes alimentos, podendo ser considerados indigeríveis ou pobremente digeríveis (Sgarbieri, 1996).

Os taninos têm ação negativa no valor nutritivo de certos vegetais, em particular a redução de digestibilidade de proteínas, a inibição da ação de enzimas digestivas e a interferência na absorção de ferro. Seus efeitos na saúde humana ainda são questionáveis devido à limitação de estudos nesta área. Mas é interessante considerar que o tanino também apresenta uma forte ação antioxidante que provavelmente poderá ser mais explorada em relação aos estudos na área de conservação de alimentos e ação no organismo humano.

#### **2.3.4.2 Flavonoides**

Os flavonoides constituem uma enorme classe de substâncias fenólicas. Estão presentes na maioria dos tecidos vegetais, frequentemente nos vacúolos, podendo ocorrer como monômeros, dímeros e oligômeros superiores (Kuskoski et al., 2004). Constituem um grupo de pigmentos vegetais amplamente distribuídos na natureza que dão cor a folhas, flores e frutos e desempenham funções de defesa, protegendo contra irradiação UV e outras (Volp et al., 2008).

Os flavonoides são subclassificados em seis subgrupos principais: flavonas (como exemplos apigenina e luteolina), flavonóis (quercetina e miricetina), catequinas ou flavanóis (epicatequina e galocatequina), flavanonas (naringenina e hesperitina), antocianinas (cianina e pelargonina) e isoflavonas

(genisteína e daidzeína). Entre esses, os flavonóis glicosídicos predominam em frutas e verduras (Volp et al., 2008).

Os flavonoides podem estar na forma livre ou como glicosídeos. A estrutura de suas agliconas consiste de dois anéis aromáticos conectados por um anel pirano (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Sua estrutura química permite a ocorrência de um grande número de transformações químicas, como hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, entre outras, o que justifica a grande diversidade estrutural desses compostos (Lopes et al., 2000). A natureza e posição dos substituintes e as insaturações presentes no anel C influenciam a solubilidade desses compostos. Assim, as antocianinas são moléculas polares devido à presença de grupos hidroxilas, carboxilas, metoxilas e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos, sendo mais solúveis em água do que em solventes não polares, o que auxilia na extração e separação das antocianinas, conforme descrito por Harborne & Grayer (1988).

As agliconas, parte da molécula destituída de açúcares, são solúveis em solventes orgânicos apolares e em soluções alcalinas diluídas. Na Figura 1 a estrutura básica de um flavonoide.

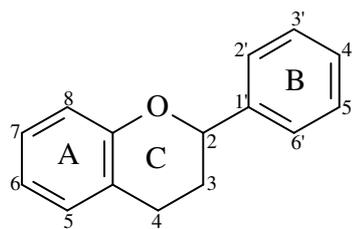


FIGURA 1 Núcleo básico dos flavonoides e sua numeração  
Fonte: Lopes et al. (2000).

### **2.3.4.3 Antocianinas**

Antocianinas são pigmentos que estão presentes predominantemente em flores e frutos e dão colorações que variam entre azul, vermelho e violeta.

Nas plantas alimentícias, as antocianinas são bastante difundidas, ocorrendo ao menos em 27 famílias, 73 gêneros e em inúmeras espécies (Bridle & Timberlake, 1997). Os principais papéis biológicos das antocianinas incluem atração de insetos, fotoproteção, modulação da fotoinibição, potencialização da fotossíntese, além de atuarem como antioxidantes endógenos (Malacrida & Motta, 2006).

Antocianinas possuem a interessante propriedade de apresentarem cores diferentes, dependendo do pH do meio em que se encontram e, por isso, são usadas como indicadores de pH. As mudanças estruturais das moléculas ocorridas mediante a variação do pH permitem a obtenção de soluções incolores ou coloridas, podendo ser vermelhas, violetas, azuis ou amarelas (Terci & Rossi, 2002).

As antocianinas são glicosídeos de antocianidina. Apresentam como estrutura básica o cátion 2-fenilbenzopirilium ou cátion flavílio. Dentre as antocianidinas encontradas na natureza, apenas seis estão presentes nos alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina, que diferem entre si quanto ao número de hidroxilas e grau de metilação, presentes no anel A e B (Lima & Guerra, 2003). Pelargonidinas dão cor laranja, salmon, rosa e vermelho. As cianidinas dão coloração vermelha e azulada e as delphinidinas, púrpura. Outros tipos de flavonoides relacionados, tais como flavonóis, flavonas, chalconas e auronas também contribuem para a definição de cor.

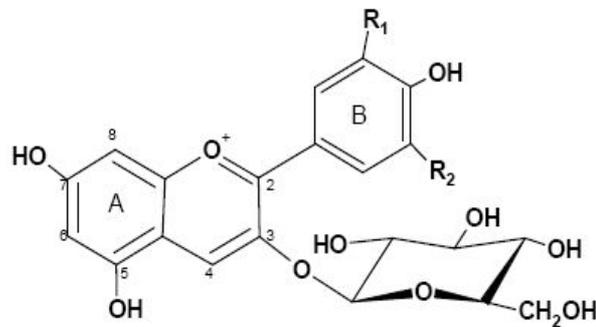
O número de hidroxilas, de grupos metoxi e glicosídicos influenciam na coloração das antocianinas. Maiores quantidades de grupos metoxila aumentam a intensidade da cor vermelha, enquanto mais hidroxilas e grupos glicosídicos

intensificam a cor azul (Harborne, 1958). As antocianidinas livres são raramente encontradas em plantas, ocorrendo comumente glicosiladas com açúcares que estabilizam a molécula (Francis, 2000). Glicose, galactose, arabinose, ramnose e xilose são os açúcares mais comumente ligados às antocianidinas (Figura 2), estando localizados nas posições C-3 e C-5 do núcleo flavílio, podendo também ocorrer glicosilação nas posições 7, 3', 4' e 5', ocorrendo como mono, di e triglicosídios. Antocianidinas livres podem fazer parte de grandes complexos coloridos com outros compostos e frequentemente com diferentes metais (Brouillard, 1982). Muitas vezes, os açúcares das antocianinas são acilados pelos ácidos p-cumárico, ferúlico, cafeico, p-hidroxibenzóico, sinápico, malônico, acético, málico, succínico, oxálico, usualmente ligados à hidroxila do açúcar na posição 3 e com menor frequência nas posições 4 e 6 do cátion flavílio (Francis, 1989).

As antocianidinas, suas colorações características e fontes naturais são mostradas na Tabela 2, em que R<sub>1</sub> corresponde à posição 3', R<sub>2</sub>, à 4', R<sub>3</sub>, à 5', R<sub>4</sub>, à 3 e R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> e R<sub>7</sub> às posições 5, 6 e 7, respectivamente.

A metoxilação é mais frequente nas posições 3' e 5' do que nas posições 5 e 7, sendo importante salientar que antocianina natural nunca apresenta as hidroxilas das posições 5, 7 e 4' substituídas ao mesmo tempo, devendo ficar livre em uma dessas posições para a formação da estrutura quinoidal, responsável pela cor (Brouillard, 1982).

Evidências recentes têm demonstrado que dietas com elevado conteúdo de vegetais, frutas e grãos podem reduzir o risco de inúmeras doenças.



Aglicona (Estrutura do anel B)		Substituição glicosídica (substituição nas posições 3 e 5)	Acilação (esterificação das hidroxilas do açúcar)
R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = H	Pelargonidina	D-glicose	Ácidos cinâmicos
R <sub>1</sub> = OH, R <sub>2</sub> = H	Cianidina	D-galactose	p-cumárico
R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OH	Delfinidina	D-xilose	Ferúlico
R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> = H	Peonidina	L-ramnose	Caféico
R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> = OH	Petunidina	L-arabinose	Ácidos alifáticos
R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub>	Malvidina	Rutinose	Acético
		Soforose	Malônico
		Sambubiose	Succínico
		Gentiobiose	

FIGURA 2 Estruturas químicas das antocianinas.  
Fonte: Malacrida & Motta (2006).

Vários autores têm associado os efeitos benéficos desses alimentos à presença de substâncias antioxidantes. A importância do estudo de agentes antioxidantes está relacionada à frequente associação entre danos teciduais e liberação de radicais livres (Rodrigues et al., 2003).

Na literatura pesquisada, não foram encontrados trabalhos relativos aos compostos bioativos do fruto jaboticaba.

TABELA 2 Antocianidinas, substituintes, coloração, característica e fontes

Antocianidina	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	Coloração	Fonte
Cianidina	-OH	OH	H	OH	OH	H	-OH	Vermelha	cereja, uva, cacau, morango, amora, figo, açai
Delfinidina	-OH	OH	OH	OH	OH	H	-OH	Púrpura	beringela, maracujá
Pelargonidina	-H	OH	H	OH	OH	H	-OH	Vermelha-alaranjada	morango, acerola, pitanga, gerânio, amora, umbigo da bananeira
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	H	-OH	Violeta	uva, feijão, acerola
Peonidina	-OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	OH	H	-OH	Púrpura	cereja, uva
Petunidina	-OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	OH	H	-OCH <sub>3</sub>	Violeta	uva, petúnia

Fonte: Brouillard (1982).

R<sub>1</sub> = 3', R<sub>2</sub> = 4', R<sub>3</sub> = 5', R<sub>4</sub> = 3 e R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> e R<sub>7</sub> = às posições 5, 6 e 7, respectivamente.

#### **a) Antocianinas como corantes naturais com atividade antioxidante**

Antioxidantes são amplamente utilizados nos alimentos processados, protegendo-os da autooxidação de lipídios, que pode levar ao desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para consumo e eventualmente dando origem a compostos tóxicos (Martins Neto, 1988). Eles podem ser sintéticos, como hidroxianisol de butila (BHA), hidroxitolueno de butila (BHT) e terci-butil-hidroquinona (TBHQ), ou naturais, como ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) e  $\beta$ -caroteno, devendo ser seguros para a saúde para serem utilizados nos alimentos. Os conservantes são aplicados em óleos e alimentos gordurosos para prevenir a deterioração oxidativa. A atividade dos antioxidantes, por sua vez, depende de sua estrutura química, podendo ser determinada pela ação da molécula como agente redutor (velocidade de inativação do radical livre, reatividade com outros antioxidantes e potencial de quelação de metais) (Volp et al., 2008).

A substituição de corantes artificiais por corantes naturais com atividade antioxidante traria grandes benefícios à saúde humana. A principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas com os produtos alimentícios. Durante a estocagem, antocianinas sofrem modificações devido à sua estabilidade. Existe um grande campo para pesquisa e desenvolvimento de corantes alimentícios a partir de fontes naturais, com o objetivo de diminuir (ou eliminar), gradativamente, a dependência do uso de corantes alimentícios sintéticos no processamento de alimentos. Os corantes naturais são considerados aditivos eficazes e seguros na indústria alimentar, não sendo empregados em grande escala em razão de sua instabilidade decorrente de diferentes fatores físicos (luz, temperatura), pH, oxigênio, ação enzimática, dificuldade de purificação e de síntese e as possíveis reações com o dióxido de enxofre, muito empregado como conservante de alimentos (Zuanazzi & Montanha, 2007).

O pH particularmente influencia na coloração das antocianinas, devido às diferentes estruturas que elas apresentam em equilíbrio aquoso (Francis, 1989). Assim, mais estudos são necessários até que se consiga a estabilização da cor e a preservação da atividade antioxidante dos pigmentos naturais, para sua maior utilização nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

A utilização de frações de frutos não consumíveis ricos em nutrientes tem levado muitos pesquisadores a desenvolver formulações que agregam valor a esses frutos. Ascheri et al. (2006), com o intuito de minimizar perdas econômicas significativas, estudaram o processo de produção de bebidas alcoólicas e desenvolveram vinho branco utilizando polpa e vinho tinto utilizando polpa e casca de jaboticaba. Posteriormente, com a finalidade de aproveitar o bagaço obtido da prensagem das massas vnicas, produziram farinhas pré-gelatinizadas misturando o bagaço à farinha de arroz polido, usando um processo de extrusão termoplástica visando à utilização desse produto, que segundo os autores é rico em fibras, sais minerais e proteínas, para o preparo de pudins, purês, bolos, bolachas, macarrão e até mesmo bebidas isotônicas.

Objetivando obter antocianinas como corantes na forma de pó, a partir do bagaço de uva da cultivar Isabel (*Vitis labrusca*), Valduga et al. (2008) promoveram o encapsulamento do pigmento utilizando maltodextrinas e goma arábica em iguais proporções e secagem em spray dryer, apresentando o encapsulado 95 mg de antocianinas por 100 g de cascas. Segundo os autores, esse procedimento foi realizado por outros pesquisadores para carotenos, utilizando encapsulamento de suco de cenoura com amidos hidrolisados e mesma forma de secagem. Esse procedimento demonstrou aumentar a retenção e estabilidade dos pigmentos.

Considerando ainda o aspecto analítico, na literatura há propostas do uso de antocianinas como reagentes analíticos na determinação de sulfito em vinho branco e na determinação visual e espectrofotométrica de cloro livre em

amostras de produtos higienizadores, além de indicadores de pH (Terci & Rossi, 2002).

#### **b) Processos de extração das antocianinas**

O crescente interesse na utilização de antocianinas como corantes alimentícios e em formulações farmacêuticas e cosméticos tem gerado uma necessidade de desenvolver e/ou aprimorar métodos analíticos para a extração, purificação, identificação e quantificação desses pigmentos a partir de espécies vegetais. O método de extração, bem como a escolha do solvente a ser utilizado na extração de antocianinas, tornam-se extremamente importantes em sua quantificação.

Na literatura são encontradas várias formas de extração, com diferentes solventes. Os vegetais vermelhos são extraídos por diferentes solventes, mas sempre acrescidos de um ácido para manter o pH inferior a 2.

Um estudo feito por Jing & Giusti (2007), para verificar os efeitos das condições de extração no rendimento e qualidade de antocianinas no milho roxo, mostrou que o aquecimento até 50°C promoveu um maior rendimento de antocianinas, usando água como solvente sob agitação. Já Lees & Francis (1972) padronizaram a extração de pigmentos em *cranberry* com maceração por 12 horas em etanol 95% acidificado com HCl 1,5 N (85:15) como ideal e válido para outros tipos de frutas. Na literatura é ainda encontrado o uso de outros solventes, como metanol em diferentes proporções e soluções de acetona, bem como diferentes métodos e tempos de extração. As antocianinas são muito solúveis em solventes polares, sendo facilmente extraídas com água, metanol e etanol. Geralmente a extração é realizada em meio ácido para prevenir a oxidação desses pigmentos.

Usualmente, após a extração, os extratos brutos são concentrados utilizando evaporadores rotativos a vácuo em temperaturas inferiores a 40°C até

massa constante. Os extratos antociânicos obtidos a partir de frutos e flores são quase sempre encontrados como uma mistura de antocianinas e também podem conter clorofila e pigmentos pertencentes ao grupo dos carotenóides. Dessa forma, muitas vezes é necessário purificar, isolar e identificar os pigmentos que compõem os extratos brutos (Harborne & Willians, 2000).

### **c) Purificação das antocianinas**

Vários métodos têm sido utilizados com sucesso para a purificação dos extratos brutos de antocianinas, entre eles a precipitação com acetato de chumbo (Bockian et al., 1955), extração líquido-líquido (Einbond et al., 2004), extração com resina de troca iônica (Shrikhande & Francis, 1973) e extração em fase sólida (Wilkinson et al., 1977). Atualmente, o mais utilizado é a extração em fase sólida (SPE – *Solid Phase Extraction*), o que se deve à relativa simplicidade para a eliminação de outras substâncias polares e não fenólicas. Os cartuchos C18 e Sephadex C18 são os mais usados (Costa et al., 2000), sendo bastante utilizadas também as fases sólidas RP Sílica gel 60, Amberlite XAD-7 (um adsorvente acrílico polimérico e não iônico), Serdolit PAD IV e Fractogel TSK CM 650 (Terci, 2004).

A purificação das antocianinas por SPE fundamenta-se na aplicação do extrato antociânico bruto no cartucho contendo um material sorvente, seguido da eluição dos componentes individuais com solventes apropriados. As antocianinas são fortemente adsorvidas na fase estacionária por suas hidroxilas não substituídas (Costa et al., 2000). Dessa forma, primeiro são eluídas as substâncias mais polares que as antocianinas, tais como açúcares e ácidos orgânicos, com a percolação de água, e posteriormente, são eluídos os pigmentos antociânicos mediante percolação de solventes menos polares (Terci, 2004).

#### **d) Separação de antocianinas**

Os primeiros estudos de separação cromatográfica de antocianinas foram realizados utilizando-se cromatografia de papel (CP). Harborne (1958) estabeleceu valores de fatores de retenção (Rf) em diferentes solventes para um grande número de antocianinas. Desde então, há na literatura vários trabalhos que utilizam CP para a separação e identificação de antocianinas em extratos vegetais (Fuleki & Francis, 1968; Shrinkhande & Francis, 1973).

A cromatografia de camada delgada também é bastante empregada. Diferentes fases estacionárias podem ser utilizadas, com possibilidade de novos mecanismos de separação e aprimoramento técnico. Contudo, os valores de Rf não são tão confiáveis quanto os da CP, devido às diferenças das espessuras das camadas de adsorventes, além de, muitas vezes, ser necessário o uso de pigmento de referência para a identificação de antocianinas.

Atualmente a técnica mais usada para a separação de antocianina é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), especialmente em fase reversa. Excelentes separações são possíveis por CLAE, por oferecer alta sensibilidade, baixo tempo de análise e a possibilidade de utilização de extratos brutos (Terci, 2004).

Não há um método analítico padrão para as separações, mas alguns parâmetros são comuns nos diferentes métodos, como:

- utilização de detector de UV, com seleção de comprimentos de onda entre 520 e 546 nm;
- utilização de colunas C18;
- os eluentes mais utilizados são acetonitrila e metanol;
- o pH da fase móvel normalmente é abaixo de 2, sendo obtido pela adição de ácido fórmico, acético ou trifluoroacético.

A eletroforese capilar também pode ser utilizada para separação das antocianinas. Apresenta alta sensibilidade e resolução, baixo consumo de

amostra e geração mínima de solvente residual, mas tem menor eficiência na separação de antocianinas em amostras complexas, quando comparadas com a CLAE, podendo ser essa a causa da pequena quantidade de trabalhos publicados com o uso de eletroforese capilar (Fernandez-Lopez et al., 1998). Outras técnicas como cromatografia contra-corrente, cromatografia de coluna aberta e cromatografia gasosa também foram empregadas.

#### **e) Identificação e quantificação das antocianinas**

As técnicas mais utilizadas para a identificação de antocianinas são espectroscopia ultravioleta e visível (UV-Vis), espectrometria de massas (MS) e CLAE.

A identificação de antocianinas em alimentos e plantas pode ser por comparação direta quando há disponibilidade de material padrão ou comparação indireta, com dados da literatura, quando não houver material padrão. Essa última é aceitável, embora sujeita a erros (Terci, 2004).

CLAE pode ser usada com um detector ultravioleta (UV) para análises de rotina e desenvolvimento de métodos ou de espectrometria de massas (MS), para a identificação das estruturas das antocianinas (Costa et al., 2000). Glässgen et al. (1992) descreveram o uso de cromatografia líquida acoplada à espectroscopia de massas com ionização eletrospray (LC-ESI-MS) para a identificação de antocianinas em cenouras pretas.

A quantidade de antocianinas presentes em frutas está relacionada a fatores climáticos, como luz e temperatura, e à espécie, entre outros (Macheix et al., 1990). Uma comparação da quantidade de antocianinas entre uma mesma espécie é difícil, sendo mais difícil ainda a comparação entre culturas e frutas diferentes. Vários métodos para a quantificação das antocianinas são utilizados, entre eles densitometria, polarografia, colorimetria, espectrofotometria,

branqueamento com dióxido de enxofre ou bissulfito de sódio e CLAE (Harborne & Willian, 2000).

A quantidade total de antocianinas em extratos brutos contendo outros materiais fenólicos tem sido determinada principalmente por espectrofotometria, medindo-se a absorvância da solução num dado comprimento de onda. Isso é possível porque as antocianinas têm uma banda de absorção típica na região do visível entre 490 e 550 nm. Essa banda está distante das bandas de absorção de outros compostos fenólicos, que apresentam uma absorção máxima em outras regiões do espectro ultravioleta (Fuleki & Francis, 1968).

O método do pH diferencial envolve medidas da absorvância referente ao cátion flavílio (forma predominante em pH 1) e ao carbinol (forma predominante em pH 4,5). Esse método foi introduzido por Sondheimer & Kertsz (1948) citado por Terci (2004).

Petri et al. (1997) propuseram um método espectrofotométrico para a quantificação de antocianinas em extratos de blueberry que utiliza uma antocianina na forma de cloreto como padrão, para a construção de uma curva analítica em meio ácido, em que as antocianinas apresentam-se como cátion flavílio, absorvendo na região do visível entre 465 e 550 nm.

Outro método descrito na literatura, contudo pouco usual, é o método subtrativo, que é fundamentado no uso de agentes oxidantes, tais como metabissulfito de sódio ou peróxido de hidrogênio, que provocam a descoloração das antocianinas. A medida da absorvância da solução de antocianinas é realizada, seguida da medida da absorvância de outra solução contendo o agente descolorante. Por diferença, a absorvância da antocianina pode ser determinada e convertida em concentração por meio de uma curva analítica previamente preparada com pigmentos purificados (Terci, 2004).

Recentemente, métodos desenvolvidos para CLAE têm sido mais utilizados e são considerados mais precisos. A limitação dessa técnica está

relacionada com a dificuldade da obtenção e o elevado custo dos padrões comerciais (Chandra et al., 2001).

#### **2.4 Antioxidantes e radicais livres**

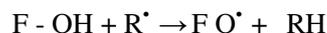
Antioxidantes são substâncias capazes de prevenir ou retardar os efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, sequestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos. Eles protegem organismos aeróbicos do estresse oxidativo, definido como a elevação na formação de espécies reativas de oxigênio que podem levar a doenças como câncer, desordens neurodegenerativas, doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas (Wang et al., 1997). As espécies reativas de oxigênio (ERO) são subprodutos do metabolismo aeróbio, sendo os principais o ânion superóxido, o peróxido de hidrogênio, o radical hidroxila e o radical peróxido.

O efeito deletério desses compostos é controlado por enzimas endógenas (catalases, superóxido dismutases e glutatona peroxidase) e por antioxidantes dietéticos (ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno e isoflavonas). As ERO são necessárias para várias reações do organismo, tais como: fagocitose, apoptose e reações de detoxificação promovidas pelo sistema citocromo P-450. Por isso, mesmo com um complexo sistema de antioxidantes celulares, eles aparentam remover somente o excesso de ERO, mantendo os níveis necessários para as funções acima citadas. O equilíbrio entre ERO e antioxidantes é necessário para o funcionamento adequado das células (Gouvêa, 2004; Volp et al., 2008).

Fenólicos como flavonoides e taninos, apresentam atividade antioxidante, visto que atuam na captura e neutralização de espécies oxidantes, como o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Podem atuar também por sinergismo com outros antioxidantes como as vitaminas C e E da dieta. Alguns flavonoides são capazes de ligar-se a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na

produção de radicais livres. Essa atividade é o resultado de um conjunto de propriedades, tais como atividade quelante de ferro, sequestrante de radicais livres, inibição de enzimas cicloxigenase, lipoxigenase, NADPH-oxidase, xantina-oxidase e fosfolipase e estimulação de enzimas com atividade antioxidante, como a catalase e a superóxido-dismutase, podendo interferir nas reações de propagação e formação de radicais livres (Trueba & Sanches, 2001). Por possuírem largo espectro de atividades biológicas e farmacológicas, têm recebido ampla atenção dos pesquisadores desde a década de 90, do século XX, sendo considerados princípios ativos em muitas plantas (Rodrigues et al., 2003).

Flavonoides, como doadores efetivos de hidrogênio, têm a capacidade de captura de radical livre devido a alta reatividade de hidroxilas substituintes que participam da seguinte reação:



A presença de hidroxilas do anel B é o determinante mais significativo da captura de ERO e de espécies reativas de nitrogênio (ERN). Os grupos hidroxilas do anel B doam hidrogênio e um elétron para radicais hidroxil, peroxil e peroxinitritos, estabilizando-os e criando um radical flavonoide estável (Heim et al., 2002).

Portanto, seu potencial antioxidante depende do número e da posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação, assim como da presença de elétrons doadores nos anéis aromáticos. A presença de hidroxilas nas posições 3' e 4' do anel B contribuem para a elevada capacidade antioxidante também encontrada nas flavonas e confere uma elevada estabilidade ao radical formado. Por outro lado, os flavonoides com um maior número de grupos hidroxila têm maior atividade antioxidante, o que foi comprovado para as antocianinas com grupos hidroxilas nas posições 4, 5 e 6, que apresentaram atividade antioxidante de

1,50, 1,85 e 2,45 mM de TEAC com o método ABTS, como pelargonidina, cianidina e delphinidina, respectivamente. Como a eficácia dos flavonoides está relacionada ao grau de hidroxilação, ela também diminui com a substituição por açúcares, apresentando os glicosídeos menor atividade antioxidante do que suas agliconas correspondentes (Kuskoski et al., 2004). Do ponto de vista estrutural, sabe-se que isoflavonas, são muitas vezes, mais ativas que flavonas, devido ao efeito estabilizante da carbonila em C<sub>4</sub> e hidroxila em C<sub>5</sub> (Haraguchi, 2001).

#### **2.4.1 Antioxidantes na cura e prevenção de doenças**

Wang et al. (1997) analisaram uma série de trabalhos feitos com substâncias naturais com capacidade antioxidante e demonstraram que elas têm efeito sobre várias doenças, como *Diabetes mellitus*, alergias, inflamações, cardiopatias, úlceras pépticas, retinopatias diabéticas (Scharrer & Ober, 1981), doenças circulatórias provocadas por fragilidade capilar (Mian et al., 1977), sobre a manutenção da permeabilidade capilar (Robert et al., 1977; Miskulin et al., 1980; Detre et al., 1986) e a prevenção de aterosclerose em coelhos (Kadar et al., 1979), além de atuarem como agentes vasoprotetor e anti-inflamatório (Lietti et al., 1976), agente quimioprotetor contra a toxicidade da platina no tratamento contra o câncer (Karaivanova et al., 1990), agente hepatoprotetor contra danos de tetracloreto de carbono (Mitcheva et al., 1993), diversas ações de várias enzimas e processos metabólicos (Carpenter et al., 1967; Wheeler et al., 1967; Ferrell Júnior et al., 1979; Saija et al., 1990).

Vários estudos demonstram que os compostos polifenólicos inibem os processos de inflamação vascular, que contribuem para o aparecimento de doenças cardiovasculares. Rechner & Kroner (2005) demonstraram que as antocianinas e metabólitos de polifenóis *in vivo* apresentam propriedades antitrombóticas, por inibir a agregação plaquetária.

A atuação de flavonoides e, em especial, de antocianinas nos diferentes estágios da carcinogênese pode estar relacionada à sua ação antioxidante, ao aumento da resposta imune ou ainda à modulação da expressão do gene supressor tumoral. Entretanto, os estágios da carcinogênese em que os flavonoides podem agir ainda não foram estabelecidos.

A mais conhecida atividade antioxidante dos flavonoides é a sua habilidade de desativar moléculas reativas de oxigênio singlete. Podem ainda proteger as membranas celulares da peroxidação lipídica, garantindo, dessa forma, a integridade e fluidez da membrana, diminuindo a formação de peróxidos imunossupressores e impedindo alterações na sinalização intracelular e função celular. As antocianinas atuam ainda na apoptose celular e angiogênese, não havendo, assim, um único mecanismo. A ação na angiogênese e na apoptose celular é interessante e pode explicar a ação antitumoral *in vitro* dessas substâncias. Durante o seu desenvolvimento, as células tumorais produzem substâncias que irão estimular o desenvolvimento de vasos que, por sua vez, servirão para alimentá-las. Substâncias que impedem esses processos, em suas diversas etapas, podem ser, portanto, muito úteis para controlar a multiplicação da célula tumoral, além de ajudarem a restringir a formação de nitrosaminas e outros compostos nitrosos encontrados em alimentos. Além disso, tais agentes protegem as células dos efeitos maléficos das nitrosaminas e adicionam efeitos redutores na formação de compostos nitrosos do ácido ascórbico (Volp et al., 2008).

Estudo *in vitro*, realizado por Zhang et al. (2005), para avaliar o efeito inibitório no crescimento de células cancerígenas de diferentes linhagens, de cinco antocianidinas e quatro antocianinas, mostrou que na concentração de 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , a malvidina e a pelargonidina inibiram, em mais de 60%, o crescimento de células cancerígenas do estômago, cólon, pulmão e mama. Em relação às células cancerígenas do sistema nervoso central, a malvidina inibiu

seu crescimento em 40,5%, e a pelargonidina, em 34%. Nessa mesma concentração, cianidina, delphinidina e petunidina inibiram o crescimento de células cancerígenas mamárias em 47%, 66% e 53%, respectivamente. Nesse estudo, as antocianinas não apresentaram atividade anticancerígena.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Total dietary fiber in approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9. ed. St. Paul: AACC, 1995. p. 05-32.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Position of the American dietetic: health implication of dietary fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 108, n. 10, p. 1716-1731, Oct. 2008.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. 478 p.

ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. Caracterização da farinha de bagaço de jabuticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 897-905, out./dez. 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2005. 1094 p.

BARCELOS, M. F. P. **Substâncias tóxicas naturais em alimentos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 109 p.

BERG, O. Myrtaceae. In: MARTIUS, C. F. P. **Flora brasiliensis**. Monachii: [s.n.], 1857. v. 14, part. 1, p. 361-362.

BOCKIAN, A.; KEPNER, R.; WEBB, A. Wine production, skin pigments of cabernet sauvignon grape and related progeny. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 3, n. 8, p. 695- 699, Aug. 1955.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours: selected aspects. **Food Chemistry**, London, v. 58, n.1, p.103-109, Jan./Feb. 1997.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins as food colors**. London: Academic, 1982. cap. 1, p. 1-40.  
BURNS, R. A. Protease inhibitors in processed plant foods. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 50, n. 2, p. 161-165, 1987.

BURTON, B. T. **Nutrição humana**: manual de nutrição na saúde e na doença. São Paulo: McGraw-Hill, 1979. 606 p.

CARPENTER, J. A.; WANG, Y.; POWERS, J. J. Effect of anthocyanin pigments on certain enzymes. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 124, n. 3, p. 702-706, 1967.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. São Paulo: UNICAMP, 2001. 212 p.

CHANDRA, A.; RANA, J.; LI, Y. Separation, identification, quantification and method validation of anthocyanins in botanical supplement raw materials by HPLC and HPLC-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 8, p. 3515-3521, Aug. 2001.

COSTA, C. T.; HORTON, D.; MARGOLIS, S. A. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, n. 1/2, p. 403-410, June 2000.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D. K. Tannin analysis of food products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 24, n.4, p. 401-449, 1986.

DETRE, Z.; JELLINEK, H.; MISKULIN, M.; ROBERT, A. M. Studies on vascular permeability in hypertension: action of anthocyanosides. **Clinical Physiology & Biochemistry**, v. 4, n. 2, p. 143-149, 1986.

EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, London, v. 84, n. 1, p. 23-28, Jan. 2004.

FERNANDEZ-LOPEZ, J. A.; ALMELA, L.; MUNOZ, J. A.; HIDALGO, V.; CARRENO, J. Dependence between colour and individual anthocyanin content in ripening grapes. **Food Research International**, Barking, v. 31, n. 9, p. 667-672, Nov. 1998.

FETT, C. **Ciência da suplementação alimentar**. 2. ed. Rio de Janeiro: Sprint, 2002. 390 p.

FERRELL JÚNIOR, J. E.; SING, P. D. G. C.; LOEW, G.; KING, R.; MANSOUR, J. M.; MANSOUR, T. E. Structure/activity studies of flavonoids as inhibitor of cyclic AMP phosphodiesterase and relationship to quantum chemical indices. **Molecular Pharmacology**, New York, v. 16, n. 2, p. 556-568, Sept. 1979.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Foods World**, Minneapolis, v. 45, n. 5, p. 208-213, May 2000.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, n. 1, p. 72-77, Jan. 1968.

GABAS, A. L.; TELIS-ROMERO, J.; MENEGALLI, F. C. Cinética de degradação do ácido ascórbico em ameixas liofilizadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 66-70, dez. 2003. Suplemento.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Inativação dos inibidores de proteases de leguminosas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 107-112, jul./dez. 2000.

GLÄSSGEN, W. E.; SEITZ, H. U.; METZGER, J. W. High-performance liquid chromatography/electrospray mass spectrometry and tandem mass spectrometry of anthocyanins from plant tissues and cell cultures of *Daucus carota* L. **Biological Mass Spectrometry**, Chichester, v. 21, n. 6, p. 271-277, 1992.

GOMES, R. P. **Fruticultura brasileira**. 11. ed. São Paulo: Nobel, 1987. 446 p.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 825-827, out./dez. 2005.

GOUVÊA, C. M. C. P. Oxidações biológicas e atividade vegetal. In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. São Paulo: Tecmed, 2004. cap. 7, p. 101-122.

HARAGUCHI, H. Antioxidative plant constituents. In: TRINGALI, C. (Ed.). **Bioactive compounds from natural sources**. London: Taylor & Francis, 2001. cap. 9, p. 337-378.

HARBORNE, J. B. The chromatographic identification of anthocyanin pigments. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1, p. 473-488, 1958.

HARBORNE, J. B.; GRAYER, R. J. The anthocyanins. In: HARBONE, J. B. (Ed.). **The flavonoids: advances in research since 1980**. London: Chapman & Hall, 1988. cap. 1, p. 1-19.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advantages in flavonoids research since 1992. **Phytochemistry**, New York, v. 55, n. 6, p. 481-504, Nov. 2000.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stonelam, v. 13, n. 9, p. 572-584, Sept. 2002.

HERBÁRIO. **Jaboticaba**. Disponível em:  
<[www.herbario.com.br/dataherb16/jaboticaba.htm](http://www.herbario.com.br/dataherb16/jaboticaba.htm)> . Acesso em: 16 ago. 2006.

HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, London, v. 96, n. 4, p. 654-664, Aug. 2006.

JING, P.; GIUSTI, M. M. Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin – rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 6, p. 363-367, Aug. 2007.

KADAR, A.; ROBERT, L.; MISKULIN, M.; TIXIER, J. M.; BRECHEMIER, D.; ROBERT, A. M. Influence of anthocyanoside treatment on the cholesterol-induced atherosclerosis in the rabbit. **Paroi Arterielle**, v. 5, n. 4, p. 187-205, 1979.

KARAIVANOVA, M.; DRENSKA, D.; OVCHAROV, R. A modification of the toxic effects of platinum complexes with antocyanins. **Ekspierimentalna Meditsina i Morfologija**, Eksp, v. 29, n. 2, p. 19-24, 1990.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; GARCIA-PARILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 691-693, oct./dic. 2004.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84, Feb. 1972.  
LIENER, I. E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. New York: Academic, 1989. 500 p.

LIETTI, A.; CRISTONI, A.; PICCI, M. Studies on vaccinium myrtillus anthocyanosides: I. vasoprotective and antiinflammatory activity. **Arzneim-Forsch**, v. 26, n. 5, p. 829-832, 1976.

LIMA, V. L. A. G.; GUERRA, N. B. Antocianinas: atividade antioxidante e biodisponibilidade. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 37, p. 121-128, dez. 2003. Suplemento.

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

MACHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. **Fruit phenolics**. Boca Raton: CRC, 1990. 361 p.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, jan./jun. 2006.

MÁRQUES, L. R. **A fibra terapêutica**. 2. ed. São Paulo: CRF Propaganda, 2001. 175 p.

MARTINS NETO, M. **Isolamento, caracterização e identificação de antioxidantes em rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* R.)**. 1988. 65 p. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. p. 220.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 386 p.

MATTOS, J. L. R. **Fruteiras nativas do Brasil: jaboticabeiras**. Porto Alegre: Nobel, 1983. 92 p.

MENDOZA, Y. P. **Substancias bioactivas em los alimentos**. Disponível em: <[http://www.unizar.es/med\\_naturalista/bioactivosenalimentos.pdf](http://www.unizar.es/med_naturalista/bioactivosenalimentos.pdf)>. Acesso em: 01 mar. 2009.

MIAN, E.; CURRI, S. B.; LIETTI, A.; BOMBARDELLI, E. Anthocyanosides and the walls of the microvessels: future aspects of the mechanism of action of their protective effect in syndromes due to abnormal capillary fragility. **Minerva Medica**, Torino, v. 68, n. 52, p. 3565-3581, 1977.

MITCHEVA, M.; ASTROUG, H.; DRENSKA, D.; POPOV, A.; KASSAROVA, M. Biochemical and morphological studies on anthocyanins and vitamin E on carbon tetrachloride induced liver injury. **Cell and Molecular Biology**, v. 39, n. 2, p. 443-448, 1993.

MISKULIN, M.; DETRE, Z.; JELLINEK, H.; ROBERT, A. M. Variation in vascular permeability in the initial phase of experimental hypertension in rat. **Paroi Arterielle**, v. 6, n. 4, p. 213-216, 1980.

PETRI, G.; KRAWCZYK, U.; KÉRY, A. Spectrophotometric and chromatographic investigation of bilberry anthocyanins for quantification purposes. **Microchemical Journal**, New York, v. 55, n. 1, p. 12-23, Jan. 1997.

PROSKY, L. L. What is fiber? Current controversies. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 10, n. 8, p. 271-275, Aug. 1999.

RECHNER, A. R.; KRONER, C. Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function. **Thrombosis Research**, Elmsford, v. 116, n. 4, p. 327-334, 2005.

ROBERT, A. M.; GODEAU, G.; MOATI, F.; MISKULIN, M. Action of anthocyanosides of *Vaccinium myrtillus* on the permeability of the blood-brain barrier. **Journal of Medicine**, New England, v. 8, n. 5, p. 321-332, 1977.

RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 315-320, jul./set. 2003.

RODRIGUES, J. B. **Hortus fluminensis ou breve notícias sobre as plantas cultivadas no Jardim Botânico de Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Leuzinger, 1894. p. 220-221.

SAIJA, A.; PRINCI, P.; D'AMICO, N.; DE PASQUALE, R.; COSTA, G. Effects of *Vaccinium myrtillus* anthocyanins on triiodothyronine transport in the rat. **Pharmacological Research**, London, v. 22, (suppl. 3), p. 59-60, Sept./Oct. 1990.

SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Influência da temperatura no comportamento reológico da polpa de jabuticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 890-896, out./dez. 2007.

SCHARRER, A.; OBER, M. Anthocyanosides in the treatment of retinopathies. **Klin. Monatsbl. Augenheilkd**, v. 178, n. 5, p. 386-389, 1981.

SCHENKEL, E. P.; CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007a. cap. 20, p. 519-535.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007b. cap. 27, p. 597-622.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. São Paulo: Almed, 1987. 387 p.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades – degradações – modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M. **Modern nutrition in health and disease**. 8. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. v. 2, 2069 p.

SHRIKHANDE, A. J.; FRANCIS, F. J. Anthocyanin pigments of sour cherries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 38, n. 4, p. 649-651, May 1973.

STARK, A.; MADAR, Z. The effect of an ethanol extract derived from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) on bile acid absorption and cholesterol levels in rats. **British Journal Nutrition**, Cambridge, v. 69, n. 1, p. 277-287, Jan. 1993.

TABELA Brasileira de Composição de Alimentos versão 2. Campinas: UNICAMP, 2006. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela&PHPSESSID=9be42781aa5e5ee461c17c2c739d2160>> . Acesso em: 12 jan. 2009.

TAVARES, G. **Elaboração e análises de um alimento alternativo destinado à complementação alimentar de populações carentes**. 2001. 105 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. 224 p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 684-688, jul. 2002.

TRUEBA, G. P.; SÁNCHEZ, G. M. Los flavonóides como antioxidantes naturales. **Acta Farmacologica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 20, n. 3, p. 297-306, 2001.

VALDUGA, E.; LIMA, L.; PRADO, R.; FERREIRA, F.; TREICHEL, H. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrus*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1568-1574, set./out. 2008.

VILAS BOAS, E. V. B. **Avaliação nutricional dos alimentos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 80 p.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides anthocyanins: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 2, p. 304-309, Feb. 1997.

WHEELER, O. R.; CARPENTER, J. A.; POWERS, J. J.; HAMDY, M. K. Inhibition of enzymes by the anthocyanin malvidin-3-monoglucoside. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 125, n. 2, p. 651-657, 1967.

WILKINSON, M.; SWWNY, J. G.; IACOBUCCI, G. A. High-pressure liquid chromatography of anthocyanidins. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 132, n. 2, p. 349-351, Feb. 1977.

ZHANG, Y.; VAREED, S. K.; NAIR, M. G. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. **Life Sciences**, v. 76, n. 13, p. 1465-1472, Feb. 2005.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. cap. 23, p. 577-614.

O capítulo 2 foi publicado na Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición, com o título: Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações, vol. 58, n. 4, p. 416-421, dez. 2008.

## CAPÍTULO 2

### CONSTITUINTES QUÍMICOS DO FRUTO JABUTICABA E SUAS FRAÇÕES: I - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E COMPOSTOS BIOATIVOS

#### 1 RESUMO

A jabuticabeira [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg] é uma planta nativa brasileira e muito pouco estudada quanto à composição química dos seus frutos, principalmente em relação aos compostos bioativos. Objetivou-se com este trabalho determinar a composição centesimal e alguns compostos bioativos no fruto inteiro e nas frações de duas variedades de jabuticaba: Paulista e Sabará. Quatro frações foram consideradas para este ensaio: fruto inteiro, casca, polpa e semente, que foram analisadas em triplicata. Cada uma das frações foi triturada, congelada e liofilizada até peso constante. Analisaram-se a proporção que cada fração representa no fruto inteiro, a composição centesimal e compostos bioativos (saponinas, inibidor de tripsina, polifenóis e lectinas). Os teores de proteína bruta e extrato etéreo foram baixos. Os teores de cinzas não variaram entre as frações, exceto para as cascas da variedade Sabará, que apresentaram os maiores. As fibras alimentares apresentaram diferença significativa entre as frações, não variando entre as duas variedades. As cascas apresentaram os maiores teores de fibra alimentar, com 33,80 g 100 g<sup>-1</sup> de matéria seca (MS) na variedade Paulista e 33,23 g 100g<sup>-1</sup> (MS) na variedade Sabará, sendo o maior percentual de fibras insolúveis. O maior teor de extrato não nitrogenado foi encontrado na polpa e o menor na casca, não havendo diferenças entre as variedades. Quanto aos compostos bioativos, apenas polifenóis nas cascas foram encontrados em elevados teores, sendo necessária sua caracterização, a fim de se verificar se o fruto é seguro para ser usado na indústria alimentícia.

**Palavras-chave:** jabuticaba, *Myrciaria cauliflora*, frações do fruto, nutrientes, compostos bioativos.

## CHEMICAL CONSTITUENTS AND FRACTIONS OF TWO VARIETIES OF JABUTICABA: I- CENTESIMAL COMPOSITION AND BIOACTIVE COMPOUNDS

### 2 ABSTRACT

The Jabuticaba tree, [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg], is a native plant of Brazil and very little is known about the chemical composition of its fruit, especially bioactive compounds. The purpose of this research was to determine the centesimal composition and some bioactive compounds of the whole fruit and its fractions from two varieties of jabuticaba, Paulista and Sabará. Four fractions were considered for this essay: whole fruit, skin, pulp and seeds, which were analyzed in triplicate. Each of these fractions was ground, frozen and lyophilized to a constant weight. They were analyzed as to the proportion that each fraction represents in the whole fruit, centesimal composition and bioactive compounds (saponin, trypsin inhibitor, polyphenols, and lectins). Protein and ether extract content were found low for all these fractions. The ash content did not vary among these fractions, except for the Sabara fruit skin, which presented the highest content. The dietary fiber content differed widely among fractions, with no differences between varieties. The skin fraction presented the highest levels of dietary fiber with 33.80 g 100 g<sup>-1</sup> in Paulista varieties and 33.23 g 100 g<sup>-1</sup> in Sabará, most being insoluble fiber. The highest amount of non-nitrogenated extract was found in the pulp fraction, whereas the lowest amount was found in the skin fraction, with no difference between both varieties. Regarding the bioactive compounds, only polyphenols in the skin presented high levels, been necessary to characterize them, to verify if it is safe to use this fruit in the food industry.

**Keywords:** jabuticaba, *Myrciaria cauliflora*, fruit fractions, nutrients, bioactive compounds.

### 3 INTRODUÇÃO

A jabuticabeira é uma árvore frutífera pertencente à família Myrtaceae, de ocorrência espontânea em grande parte do Brasil. Seus frutos são do tipo baga globosa de até 3 cm de diâmetro, com casca preto-avermelhada, polpa esbranquiçada mucilaginosa, agridoce, muito saborosa; apresenta comumente uma única semente, mas pode apresentar até 4 sementes (Gomes, 1987).

A espécie mais difundida no Brasil é a *M. cauliflora*, sendo as principais variedades: a) Sabará, a mais apreciada e doce das jabuticabas e a mais intensamente plantada; apresenta crescimento médio, mas é muito produtiva. O fruto é miúdo e muito saboroso, de epicarpo fino quase preto, com maturação precoce; b) Paulista, de maior porte do que a Sabará e de grande produção. O fruto é grande e coriáceo, com maturação mais tardia (Gomes, 1987).

A jabuticaba pode ser consumida ao natural ou em geleias. A polpa fermentada produz licor, vinho e vinagre. A casca é adstringente, útil contra diarreia e irritações da pele. Também tem indicações na medicina popular como antiasmáticas, na inflamação dos intestinos e hemoptise (Herbário, 2006).

A jabuticaba, embora popular em todo o País, não chega a ter valor comercial muito alto, por ser muito perecível, mas tem sua venda assegurada. Apesar de ser grande a produção de um único pé, depois de colhida, a fruta tem uma vida útil de até três dias, o que prejudica a sua comercialização.

Na fabricação de geleias dessa fruta, normalmente as cascas e sementes são desprezadas. Um maior aproveitamento dessas frações agregaria mais valor a essa fruta. Tomando como exemplo a uva, que tem óleo muito apreciado na indústria cosmética, extraído de suas pequenas sementes, a semente da jabuticaba também deve ser analisada. As cascas ricas em pigmentos

provavelmente possam ser utilizadas na indústria alimentícia como corante. Escassos estudos são encontrados na literatura quanto aos constituintes químicos, sobretudo os compostos bioativos, principalmente em relação às frações da fruta; as poucas em publicações são de abrangência nacional (Pereira et al., 2000); (Oliveira et al., 2003).

Compostos bioativos que agem como substâncias antinutritivas são aquelas que, de alguma forma, provocam a destruição de nutrientes essenciais ou prejudicam o organismo, alterando a digestão, a absorção e o metabolismo (Araújo, 2004). Podem estar presentes naturalmente em alimentos crus e nos inadequadamente processados, como os inibidores de tripsina, lectinas, bociogênicos, ácido oxálico, etc, e mesmo em alimentos cozidos e inadequadamente processados, como os nitratos, fitatos, estrogênicos e outros.

Neste trabalho, objetivou-se determinar a composição centesimal e alguns compostos bioativos no fruto inteiro e nas frações casca, polpa e sementes de duas variedades de jabuticaba, com a finalidade de assegurar o seu uso em preparações dietéticas, produtos industrializados e formulações de novos produtos, promovendo um maior aproveitamento da fruta, agregando-lhe valor.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras

Jaboticabas maduras de duas variedades, Paulista e Sabará, foram colhidas pela manhã na fazenda São José do Imeril, município de Coqueiral, MG. Os frutos foram selecionados, lavados, sanificados com hipoclorito de sódio ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) por imersão de 10 minutos, pesados e separados em fruto inteiro e em frações (casca, polpa e semente) e cada uma dessas partes foram pesadas e separadas para se obter três repetições. A parte destinada à análise de frutos inteiros foi triturada em liquidificador por 2 minutos, congelada em porções de peso conhecido e liofilizadas até peso constante. Os frutos foram esmagados sobre uma peneira grossa, separando-se as cascas, sementes e polpa, que foram embaladas, pesadas, congeladas e liofilizadas até peso constante.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial  $4 \times 2$ , sendo 4 as frações fruto inteiro, casca, polpa e semente e 2 variedades de jaboticabas com 3 repetições. A análise estatística foi feita empregando-se o programa SISVAR (Ferreira, 2003), sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

### 4.2 Análises

#### 4.2.1 Peso médio e proporção das frações no fruto

As amostras foram pesadas após higienização e após serem separadas em fruto inteiro e frações casca, polpa e semente, para verificação de quanto cada fração correspondia em relação ao fruto inteiro.

#### **4.2.2 Composição centesimal**

Os teores de lipídeos (extrato etéreo), proteína bruta ( $N \times 6,25$ ), cinzas e fibras alimentares foram quantificados utilizando os métodos descritos pela Association of Official Agricultural Chemists, AOAC (2005). O extrato não nitrogenado (fração glicídica) foi determinado pela diferença entre 100 e os teores de extrato etéreo, proteína bruta, cinzas e fibra alimentar. A umidade das frações e do fruto inteiro foi calculada por gravimetria, pela diferença de peso da amostra fresca e após liofilização até peso constante.

#### **4.2.3 Sólidos solúveis, acidez titulável e pH**

Os teores de sólidos solúveis nas frações e fruto inteiro foram determinados de acordo com metodologia da AOAC (2005), restituindo às amostras o percentual de umidade perdido na liofilização. Fez-se uma homogeneização em politron, filtração das amostras e realização de leitura em refratômetro digital da marca Homis, ref. 121. Os resultados foram expressos em °Brix.

Para a determinação da acidez titulável (ATT) e pH, após a restituição da umidade, foram acrescentados 40 mL de água destilada, homogeneização em politron e filtração em tecido de organza. Após a determinação do pH em peagâmetro digital, as amostras foram tituladas com NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , usando fenolftaleína como indicador, até as mostras alcançarem o pH de 8,1. Os cálculos foram feitos levando-se em consideração o peso de amostra utilizada, o volume de NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  gasto e considerando-se do ácido cítrico como referência.

#### **4.2.4 Compostos bioativos**

##### **a) Saponinas**

Fez-se a extração das saponinas das amostras com etanol, em agitação por 1 hora, à temperatura ambiente. O teor de saponinas foi determinado pela reação da saponina com o anisaldeído e a digitonina utilizada como padrão (Baccou et al., 1977).

##### **b) Inibidor de tripsina**

Foi utilizada metodologia desenvolvida por Kakade et al. (1974), que consiste na determinação da atividade do inibidor de tripsina, utilizando como substrato o benzoil-DL-arginina-p-nitriloanilida (BApNA). A presença de inibidor na amostra inibe a ação da tripsina sobre o BApNA. Uma unidade de tripsina (UT) foi definida arbitrariamente como o aumento de 0,01 unidade de absorbância a 410 nm por 10 mL do meio de reação. Os resultados foram expressos como unidades de tripsina inibida (UTI) por mg de amostra.

##### **c) Polifenóis**

A dosagem de polifenóis em extrato metanólico 50% foi feita segundo metodologia de Folin-Denis, em que a redução do reagente pelos compostos fenólicos das amostras com intensa cor azul é medida espectrofotometricamente a 760 nm, usando ácido tânico como padrão (AOAC, 2005; Deshpande et al., 1986).

##### **d) Lectinas**

As lectinas foram extraídas com uma solução salina (NaCl 0,85 g 100 mL<sup>-1</sup>) tamponada com tampão fostato pH 7,4, com agitação à temperatura ambiente por três horas. Foi utilizada uma placa de microtitulação, à qual se adicionaram diluições na base 2 do extrato, em seguida adicionou-se uma

suspensão de eritrócitos a 2% de sangue humano tipo A Rh<sup>+</sup>. Após 1 hora, verificou-se qual a maior diluição capaz de promover hemaglutinação (Barca et al., 1985). Os resultados foram expressos em número de unidades hemaglutinantes (UH), que é calculado a partir do inverso do título da maior diluição, na base 2, que ainda apresentou aglutinação visível. Por exemplo: considerando uma diluição 2<sup>3</sup>, o seu título igual a 1/8, e o volume de amostra utilizado no ensaio de 100 µL, a atividade hemaglutinante (AH) é de 8 UH 100µL<sup>-1</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de umidade (em g 100 g<sup>-1</sup>) do fruto inteiro, casca, polpa e semente, respectivamente, foram de: 80,35 ± 0,28; 75,84 ± 1,67; 83,91 ± 0,87 e 70,43 ± 2,98 para a variedade Paulista, e de: 79,41 ± 0,55; 84,24 ± 0,01; 84,95 ± 0,80 e 71,48 ± 0,96 para a Sabará, observando-se alto teor de água tanto no fruto inteiro quanto nas frações de ambas as variedades.

### 5.1 Peso médio e proporção das frações no fruto

Na Tabela 1 verificam-se o peso médio das frações e a proporção de cada fração. Observa-se que casca e semente juntas representam mais de 50% do peso do fruto.

Esse percentual é muito grande para ser desperdiçado, quando considerado resíduo na fabricação de geleias artesanais ou industriais. Na fabricação de vinhos e licores, são utilizadas a polpa e casca; as sementes somente são utilizadas para a formação de novas mudas.

Geralmente a variedade Paulista apresenta frutos maiores que a Sabará. Nessa safra, excepcionalmente, os frutos da variedade Sabará estavam ainda mais miúdos, justificando a proporção da fração casca estar superior e a fração polpa inferior à da Paulista.

As perdas representam a diferença entre o peso inicial das amostras e o peso após o preparo, considerando problemas em decorrência de separação, embalagem e de perdas na liofilização.

TABELA 1 Peso médio de amostras de frutos inteiros e das frações\* e respectivas proporções de duas variedades de jabuticaba.

<b>Amostra</b>	<b>Variedade</b>	
	<b>Paulista</b>	<b>Sabará</b>
<b>Fruto inteiro</b>		
<b>g</b>	9.166,89 ± 276,92	8.266,83 ± 189,07
<b>Casca</b>		
<b>g</b>	2.766,38 ± 155,54	3.255,26 ± 285,60
<b>%</b>	32,93 ± 1,19	42,76 ± 2,79
<b>Polpa</b>		
<b>g</b>	4.123,04 ± 147,91	2.705,26 ± 66,35
<b>%</b>	49,12 ± 1,92	35,59 ± 1,34
<b>Sementes</b>		
<b>g</b>	1.508,37 ± 111,46	1.644,14 ± 75,39
<b>%</b>	17,95 ± 0,82	21,65 ± 1,53
<b>Perdas</b>		
<b>g</b>	769,1 ± 3,02	662,17 ± 2,29
<b>%</b>	8,39 ± 3,02	8,01 ± 2,29

\* Os dados representam a média de três repeties ± desvio padrão.

## 5.2 Composição centesimal

A composição centesimal das duas variedades de jabuticaba consta na Tabela 2. Os teores de proteína bruta e extrato etéreo (EE) foram relativamente baixos, mesmo nas sementes. Comparando-se as variedades Paulista e Sabará, nenhuma diferença foi notada, quanto a proteínas totais. A casca e a polpa da variedade Sabará apresentaram os mais baixos teores de EE, em mteria seca (MS), em comparação com a variedade Paulista. Independentemente da variedade, o teor de proteínas e EE na polpa foi sempre inferior ao observado na casca e semente.

A maioria das frutas apresenta baixos níveis de proteínas e lipídios. Elias et al. (2008), analisando caqui desidratado, encontraram níveis de proteínas de 1,68 g 100 g<sup>-1</sup> MS e de lipídios 0,40 g 100 g<sup>-1</sup> MS (EE).

Destacaram-se os glicídeos (ENN) e cinzas, principalmente nas cascas da variedade Sabará, bem como os teores de fibras alimentares.

Os teores de cinzas não variaram entre as frações e fruto inteiro na variedade Paulista. Já na variedade Sabará, os teores de cinzas da casca foram superiores aos da polpa e semente.

Fibras alimentares são constituídas pela fração insolúvel, que contém celulose, algumas hemiceluloses e a lignina, e pela fração solúvel, que contém pectinas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses (Pourchet-Campos, 1988). Os teores de fibras alimentares não apresentaram diferença significativa entre as variedades, exceto o fruto inteiro da variedade Paulista, que apresentou o maior nível de fibra solúvel. As cascas e sementes apresentaram os maiores teores de fibras insolúveis, não se diferenciando entre as variedades. Também nas cascas estão os maiores níveis de fibras solúveis, que também não se diferenciaram entre as variedades. As polpas apresentaram os menores teores de fibra alimentar: 4,34 g 100 g<sup>-1</sup> para a variedade Paulista e 5,23 g 100 g<sup>-1</sup> para a variedade Sabará, mas foram superiores aos de outros frutos, como a uva-preta, que apresentou 1,12 g 100 g<sup>-1</sup> MS, e a acerola, 1,85 g 100 g<sup>-1</sup> MS (Salgado et al., 1999). Os resultados de fibras encontrados foram inferiores aos apresentados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, TACO (2006), para jabuticaba, quando transformados em frutos frescos. Entretanto, os teores dos demais constituintes foram semelhantes.

O extrato não nitrogenado ou fração glicídica constitui-se principalmente de açúcares. Assim, o maior teor foi encontrado na polpa, seguido pelo fruto inteiro, semente e casca.

TABELA 2 Composição centesimal, em g 100g<sup>-1</sup> de matéria seca, do fruto inteiro e frações de duas variedades de jabuticaba.

Variedade	Proteína bruta	Extrato etéreo	Cinzas	Fibra alimentar		ENN*
				Solúvel	Insolúvel	
<b>Paulista</b>						
Casca	1,10 ± 0,04 cA	0,68 ± 0,05 dB	2,80 ± 0,29 aA	6,77 ± 0,35 dA	27,03 ± 1,23 cA	61,60 ± 1,02 aA
Polpa	0,44 ± 0,03 aA	0,21 ± 0,02aB	2,90 ± 0,11 aA	1,77 ± 0,38 bA	2,57 ± 0,55 aA	92,11 ± 0,96 dA
Semente	1,12 ± 0,03cA	0,53 ± 0,04cA	2,84 ± 0,22 aA	0,57 ± 0,12 aA	27,16 ± 2,58 cA	67,66 ± 2,81 bA
Fr.inteiro	0,88 ± 0,01bA	0,44 ± 0,05 bA	2,80 ± 0,13 aA	3,57 ± 0,10 cB	14,27 ± 1,24 bA	77,14 ± 1,51 cA
<b>Sabará</b>						
Casca	1,16 ± 0,04cA	0,57 ± 0,10 cA	4,39 ± 0,12 cB	6,80 ± 0,10 cA	26,43 ± 0,45 cA	60,64 ± 0,27 aA
Polpa	0,47 ± 0,01aA	0,06 ± 0,02 aA	2,71 ± 0,19 aA	1,93 ± 0,31 bA	3,30 ± 0,50 aA	90,32 ± 1,58 dA
Semente	1,17 ± 0,11cA	0,58 ± 0,02 cA	2,68 ± 0,17 aA	1,40 ± 0,10 aA	26,93 ± 2,29 cA	67,64 ± 2,79 bA
Fr.inteiro	0,92 ± 0,06bA	0,42 ± 0,02 bA	3,82 ± 0,15 bA	2,23 ± 0,12 bA	16,63 ± 0,75 bA	75,97 ± 0,81 aA
CV (%)	5,57	10,82	5,59	7,20	7,91	2,43

Os dados são a média de 3 repetições ± desvio-padrão.

Letras minúsculas comparam fruto inteiro e frações dentro de cada variedade e letras maiúsculas comparam as variedades. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

\*ENN: Extrato não nitrogenado.

Semente e casca mantêm uma pequena porção de polpa agarradas a elas, sendo, portanto, parte desses açúcares provenientes dela. Não houve diferença significativa entre as variedades.

### 5.3 Sólidos solúveis, acidez titulável e pH

Os sólidos solúveis (SS) representam o conteúdo de açúcares solúveis, ácidos orgânicos e outros constituintes menores (Robson & Grierson, 1993). A concentração desses sólidos constitui-se em uma das variáveis mais importantes para medir a qualidade de frutos.

Os teores de SS, da acidez titulável (AT), expressos em g de ácido cítrico por 100 g de polpa fresca e pH, são mostrados na Tabela 3.

TABELA 3 Sólidos solúveis totais (SS), acidez total titulável (AT) e pH do fruto inteiro e das frações de duas variedades de jaboticabas.

<b>Variedade</b>	<b>SS (°Brix)</b>	<b>AT (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>pH</b>
<b>Paulista</b>			
Casca	12,40 ± 0,52 a B	3,25 ± 0,24 c B	3,47 ± 0,03 a B
Polpa	14,90 ± 0,79 b A	0,99 ± 0,02 a A	3,50 ± 0,00 a A
Semente	12,50 ± 0,62 a B	1,38 ± 0,09 b A	4,01 ± 0,06 c A
Fruto inteiro	12,60 ± 0,75 a A	1,37 ± 0,06 b A	3,59 ± 0,02 b A
<b>Sabará</b>			
Casca	9,30 ± 0,79 a A	2,12 ± 0,06 d A	3,39 ± 0,04 a A
Polpa	14,13 ± 0,90 c A	0,97 ± 0,01 a A	3,50 ± 0,00 b A
Semente	11,20 ± 0,35 b A	1,41 ± 0,11 b A	3,97 ± 0,02 d A
Fruto inteiro	11,60 ± 0,62 b A	1,67 ± 0,03 c B	3,55 ± 0,02 c A
<b>CV (%)</b>	<b>5,67</b>	<b>6,33</b>	<b>0,78</b>

Os dados são média de 3 repetições ± desvio-padrão.

Letras minúsculas comparam fruto inteiro e frações dentro de cada variedade e letras maiúsculas comparam entre as variedades. Letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

A polpa da variedade Paulista apresentou o maior teor de SS, (14,90° Brix), não havendo diferença estatística entre o fruto inteiro, casca e semente. Na variedade Sabará, também a polpa destacou-se (14,13° Brix), seguida pelo fruto inteiro e pela semente e a casca, que apresentou o menor teor. Entre as variedades, houve diferença significativa apenas nas cascas e sementes, as quais foram superiores na variedade Paulista. Os resultados são semelhantes aos encontrados por Brunini et al. (2004), com variação de 12 a 15,5° Brix, e por Pereira et al. (2000), que encontraram variação entre 9 e 14° Brix, para polpas de jaboticabas Sabará, ambas da região de São Paulo. Teores acima de 15° Brix podem sugerir uma menor conservação pós-colheita para jaboticaba, pois segundo Barros et al. (1996), excesso de açúcares no fruto pode levar a uma rápida deterioração e fermentação e conseqüente redução da vida útil.

A AT variou entre as frações, sendo estatisticamente diferente em todas as frações da variedade Sabará, na qual a casca apresentou os maiores teores, e a polpa, os menores. Também na variedade Paulista a polpa obteve os menores teores, e a casca, os maiores, não variando entre semente e fruto inteiro. Entre as variedades, houve diferença apenas entre as cascas e fruto inteiro.

Os valores de pH apresentaram pequena oscilação entre as frações e entre as variedades, variando entre 3,39 e 3,97 na variedade Sabará e entre 3,47 e 4,01 na Paulista.

#### **5.4 Compostos bioativos**

Os compostos bioativos e a atividade hemaglutinante no fruto inteiro e nas frações da jaboticaba são mostrados na Tabela 4. A semente apresentou os níveis mais baixos de saponinas, não havendo diferença significativa entre as duas variedades. A casca da variedade Paulista mostrou os teores mais elevados de saponinas, enquanto na Sabará, a polpa e o fruto inteiro destacaram-se. Os níveis de saponinas da jaboticaba encontram-se na faixa de variação descrita

para sementes de soja: 0,07 a 5,1 g 100 g<sup>-1</sup> MS (Fenwick & Oakenfull, 1981; Shiraiwa et al., 1991).

A variedade Sabará apresentou teores de inibidor de tripsina mais elevados na casca, semente e fruto inteiro, comparado à Paulista.

TABELA 4 Teores de antinutrientes e atividade hemaglutinante, em matéria seca, no fruto inteiro e frações de duas variedades de jaboticaba.

Variedade	Saponina (g 100g <sup>-1</sup> )	I.Tripsina (UTI mg <sup>-1</sup> )MS*	Polifenóis (g 100g <sup>-1</sup> )	Lectina (UH)**
<b>Paulista</b>				
Casca	0,78 ± 0,03 d B	3,22 ± 0,05 b A	11,18 ± 0,22 d A	2
Polpa	0,66 ± 0,03 c A	1,58 ± 0,23 a A	0,45 ± 0,02 a A	ND <sup>‡</sup>
Semente	0,35 ± 0,01 a A	5,23 ± 0,13 c A	7,54 ± 0,35 c A	ND
F.Inteiro	0,62 ± 0,01 b A	2,90 ± 0,22 b A	6,49 ± 0,34 b A	1
<b>Sabará</b>				
Casca	0,63 ± 0,01 b A	6,42 ± 0,75 c B	11,99 ± 0,76 c B	2
Polpa	0,67 ± 0,01 c A	1,68 ± 0,11 a A	0,49 ± 0,01 a A	ND
Semente	0,34 ± 0,01 a A	6,20 ± 0,18 c B	8,56 ± 0,02 b B	ND
F.Inteiro	0,68 ± 0,02 c B	4,15 ± 0,05 b B	8,51 ± 0,10 b B	2
CV (%)	2,96	7,66	4,79	

Os dados são a média de 3 repetições ± desvio-padrão. Letras minúsculas comparam fruto inteiro e frações dentro de cada variedade e letras maiúsculas comparam entre as variedades. Letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

\*UTI: Unidade de tripsina inibida.

\*\*O valor expressa o inverso do título da maior diluição na base 2 que ainda produziu aglutinação visível em número de unidades hemaglutinantes (UH) em cada 100 µL de amostra utilizados no ensaio com sangue humano tipo A Rh +.

<sup>‡</sup> ND: Não detectado.

Os menores teores foram encontrados na polpa, não se diferenciando entre as variedades. Inibidores de tripsina são usualmente encontrados em leguminosas, sendo a soja o melhor exemplo. Nela, encontram-se teores que variam de 37,73 a 51,68 UTI mg<sup>-1</sup> MS (Hafez, 1983; Barcelos et al., 1999). Os níveis de inibidor de tripsina da jabuticaba foram bem inferiores (1,58 a 6,42 UTI mg<sup>-1</sup> MS). Não foi encontrada na literatura dosagem de inibidor de tripsina em frutas, para comparação.

As cascas apresentaram os maiores teores de polifenóis, não havendo diferença entre as variedades. Semente e fruto inteiro também apresentaram teores apreciáveis de polifenóis. Como na uva, esses são mais intensos nas cascas e sementes. Na polpa, não houve diferença entre as variedades e apresentaram-se mais baixos que as demais amostras.

Kuskoski et al. (2006) encontraram 0,58 g de polifenóis totais em 100 g de acerola congelada e 0,14 e 0,13 g 100 g<sup>-1</sup> no açaí, e morango, respectivamente. Transformando-se os dados do presente trabalho em matéria fresca, têm-se, no fruto inteiro e na polpa, respectivamente, 1,27 e 0,07 g 100 g<sup>-1</sup> na variedade Paulista e 1,75 e 0,07g 100 g<sup>-1</sup> na variedade Sabará. As cascas com os maiores teores de polifenóis têm 2,70 g 100 g<sup>-1</sup> na variedade Paulista e 1,89 g 100 g<sup>-1</sup> na Sabará, podendo, então, concluir que a jabuticaba é rica em compostos polifenólicos, sendo na polpa encontradas as menores quantidades.

Entre os compostos fenólicos encontrados nos vegetais, estão as antocianinas, que são pigmentos solúveis na água, que dão cores as flores, frutos e folhas, variando entre laranja, vermelho e azul. Sendo a casca da jabuticaba altamente pigmentada, já se esperavam altos teores desses compostos.

Para as antocianinas, são atribuídos apenas efeitos benéficos como atividade antioxidante, por exemplo. Já quanto aos taninos, sabe-se que podem interagir com proteínas alimentares e formar complexos insolúveis, podendo provocar danos à saúde, como baixa digestibilidade proteica, inibição de

enzimas, comprometimento do crescimento e outros, apesar de também serem conferidos a eles vários efeitos benéficos. Por isso é de extrema importância a caracterização desse constituinte, a fim de dar segurança ao uso tanto do fruto inteiro como de suas frações à indústria alimentícia.

Não se detectou atividade hemaglutinante na polpa e semente das duas variedades de jaboticabas. Entretanto, a casca mostrou atividade hemaglutinante de 2UH e, no fruto inteiro, variou de 1 na variedade Sabará, a 2UH na Paulista. Esses valores são inferiores aos encontrados por Del-Vechio et al. (2005) em sementes de abóbora, que variaram entre 2 e 8 UH. Entretanto, a toxicidade da lectina não está relacionada apenas com a atividade hemaglutinante, devendo, assim, ser mais investigada.

## 6 CONCLUSÃO

As cascas e sementes do fruto jabuticaba, juntos, representam mais de 50% do peso do fruto. Os teores de cinzas encontrados mostram que a jabuticaba é uma fruta rica em minerais. O fruto também é rico em fibras, glicídeos e polifenóis. Quanto a saponinas, inibidor de tripsina e lectina, tanto o fruto inteiro quanto as suas frações apresentaram níveis inferiores ou semelhantes aos de alimentos convencionais.

Portanto, o conhecimento desses constituintes químicos do fruto e de suas frações contribui para um melhor aproveitamento do fruto, seja na indústria alimentícia, seja na cosmética, promovendo a sua valorização econômica.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos, teoria e prática**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. 478 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemists**. 18. ed. Mayland: AOAC, 2005. 1094 p.

BACCOU, J. C.; LAMBERT, F.; SAUVAIRE, Y. Spectrometric method for the determination of total steroidal sapogenin. **Analyst**, London, v. 102, n. 1215, p. 458-465, 1977.

BARCA, A. M. C. de la; OCHOA, J. L.; VALENCIA, M. E. Effect of extraction of a hemagglutinin on the nutritive value of *Amaranthus leucocarpus* seeds. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 6, p. 1770-1772, Nov. 1985.

BARCELOS, M. F. P.; TAVARES, D. Q.; SILVA, M. A. A. P.; MIRANDA, M. A. C.; GERMER, S. P. M.; FERREIRA, V. L. P.; CAMPOS, S. D. Ensaio tecnológico e sensorial de soja [*Glycine max* (L) merrill] enlatada em estádios verdes e no estádio da maturação de colheita. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 46-58, jan./abr. 1999.

BARROS, R. S.; FINGER, F. L.; MAGALHÃES, M. M. Changes in non-structural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 66, n. 3/4, p. 209-215, Oct. 1996.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. A. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jaboticaba (Vell) Berg cv Sabará. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 378-383, jul./set. 2004.

DEL-VECHIO, G.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D. Efeito do tratamento térmico em sementes de abóbora (*Curcubita spp*) sobre níveis de fatores antinutricionais e/ou tóxicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 369-376, mar./abr. 2005.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKE, D. K. Tannin analysis of food products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1986.

ELIAS, N. F.; BERBERT, P. M.; MOLINA, M. A. B.; VIANA, A. P.; DIONELLO, R. G.; QUEIROZ, V. A.V. Avaliação nutricional e sensorial de caqui cv Fuyu submetido à desidratação osmótica e secagem por convecção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 322-328, abr./jun. 2008.

FENWICK, D. E.; OAKENFULL, D. Saponin content of soya beans and some commercial soya bean products. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 32, n. 3, p. 273-278, Mar. 1981.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 4. 6 (build 61) software. Lavras: Dex/UFLA, 2003. Disponível em: < <http://www.dex.ufla.br/danielff/dff02.htm>>. Acesso em: 18 jun. 2006.

GOMES, R. P. **Fruticultura brasileira**. 11. ed. São Paulo: Nobel, 1987. 446 p. HAFEZ, Y. S. Nutrient composition of different varieties and strains of soybean. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 28, n. 3, p. 1197-1206, 1983.

HERBÁRIO. **Jaboticaba**. Disponível em: <[www.herbario.com.br/dataherb16/jaboticaba.htm](http://www.herbario.com.br/dataherb16/jaboticaba.htm)> . Acesso em: 16 ago. 2006.

KAKADE, M. L.; RACKIS, J. J.; MC GHEE, J. E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy product: a collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 51, p. 376-382, May/June 1974.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Catarina, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, jul./ago. 2006.

OLIVEIRA, A. L.; BRUNINI, M. A.; SALANDINI, C. A. R.; BAZZO, F. R. Caracterização tecnológica de jaboticabas Sabará provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 397-400, dez. 2003.

PEREIRA, M. C. T.; SALOMÃO, L. C. C.; MOTA, W. F. da; VIEIRA, G. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, p. 16-21, jul. 2000. Número Especial.

POURCHET-CAMPOS, M. A. Fibra e nutrição. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3/4, p. 167-171, jul./dez. 1988.

ROBSON, G. E.; GRIERSON, D. Tomato. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (Ed.). **Biochemistry of fruits ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. cap. 13, p. 405-442.

SALGADO, S. M.; GUERRA, N. B.; MELO FILHO, A. B. Polpa de fruta congelada: efeito do processamento sobre o conteúdo da fibra alimentar. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 3, p. 303-308, set./dez. 1999.

SHIRAIWA, M.; HARADA, K.; OKUBO, K. Composition and content of saponins in soybean seed according to variety, cultivation year and maturity. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 55, n. 2, p. 323-331, 1991.

TABELA Brasileira de Composição de Alimentos versão 2. Campinas: UNICAMP, 2006. Disponível em:  
<<http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela&PHPSESSID=9be42781aa5e5ee461c17c2c739d2160>> . Acesso em: 12 jan. 2009.

### CAPÍTULO 3

## CONSTITUINTES QUÍMICOS DO FRUTO JABUTICABA E SUAS FRAÇÕES: II - AÇÚCARES, ÁCIDOS ORGÂNICOS, MINERAIS, VITAMINA C E LIPÍDEOS

### 1 RESUMO

O fruto inteiro e suas frações de duas variedades de jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg] foram analisados quanto aos teores de açúcares, ácidos orgânicos, vitamina C e minerais, assim como a composição do óleo das cascas e sementes. As polpas apresentaram elevados teores de açúcares totais, destacando-se a frutose, seguida de glicose e sacarose, que também foram encontradas nas cascas, sementes e conseqüentemente, no fruto inteiro. Foram encontrados 5 ácidos orgânicos nas polpas e nos frutos inteiros, estando eles na seguinte ordem quantitativa: ácido cítrico > ácido succínico > ácido málico > ácido oxálico > ácido acético. Nas cascas e sementes, o ácido succínico e cítrico apareceram como majoritários. Os ácidos málico e acético estão presentes em quantidades muito baixas. Foram encontrados maiores teores de vitamina C nas cascas e sementes de ambas as variedades. Para os minerais, o potássio foi o elemento mais abundante. A fruta mostrou ser rica em magnésio, fósforo, cálcio e cobre. Utilizando-se a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, foi caracterizado o óleo de sementes que, por cromatografia de camada delgada, mostrou ter praticamente a mesma constituição do óleo extraído das cascas. O composto majoritário foi um fitosterol, que não foi identificado, seguido pelos ácidos palmítico, linoleico e oleico e o esqualeno, que foram identificados com probabilidade superior a 98%.

**Palavras-chave:** *Myrciaria cauliflora*, açúcares, ácidos orgânicos, minerais, Vitamina C, composição do óleo.

**CHEMICAL CONSTITUENTS OF JABUTICABA AND ITS  
FRACTIONS: II- SUGAR, ORGANIC ACIDS, MINERALS, VITAMIN C,  
AND LIPIDS**

**2 ABSTRACT**

The whole fruit and its fractions (skin, seeds, and pulp) of two varieties of jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg] were analyzed for sugars, organic acids, vitamin C, and mineral composition, as well as the composition of the skin and seed oil. The pulp fraction of both varieties presented the highest amount of total sugar, with emphasis on fructose, followed by glucose and sucrose that were also found in the skin fraction, seed and the whole fruit. Five organic acids were found in the pulp fractions and in the whole fruit: citric acid > succinic acid > malic acid > oxalic acid > acetic acid. Higher amounts of succinic and citric acids were found in the skin and seed fractions, as compared to the other acids. The malic and acetic acids are present in very low quantities in all the fractions and both varieties. Higher quantities of vitamin C were found in the skin and seed fractions of both varieties. For the minerals, potassium was the most abundant element found. This fruit also showed to be rich in magnesium, phosphorus, calcium and copper. The seed fraction oil, which was characterized by GC-MS chromatography, has the same constitution in the skin fraction of both varieties, as confirmed by thin layer chromatography. The majority compound was a phytosterol, that was not identified, followed by the palmitic, linoleic, oleic acid, and squalene, identified with probability superior to 98%.

**Keywords:** *Myrciaria cauliflora* , sugar, organic acids, vitamin C, minerals, oil composition.

### 3 INTRODUÇÃO

A jabuticaba é uma fruta de origem brasileira, com a maioria das espécies pertencentes ao gênero *Myrciaria* e família *Myrtaceae*, que é composta por mais de 100 gêneros e 3.600 espécies. É cultivada de norte a sul do Brasil, principalmente nos estados da região Sudeste. São plantas perenes de grande rusticidade e altamente produtivas, podendo frutificar duas vezes ao ano e a fase reprodutiva tem duração de 30 a 50 anos (Gomes, 1983). Os frutos podem ser consumidos *in natura* ou em licores e geleias.

Em todo o mundo observa-se um aumento crescente no consumo de frutas tropicais, devido ao seu valor nutricional, em alguns casos medicinais e ainda pelo sabor exótico que possuem. O comércio de frutas é estimado em milhões de dólares e o Brasil destaca-se nesse cenário como o terceiro produtor de frutas tropicais (Kuskoski et al., 2005).

Frutas e vegetais são exemplos de importantes fontes de elementos essenciais. As frutas são ricas em açúcares, ácidos orgânicos, sais minerais, vitaminas e pigmentos. Os açúcares e ácidos orgânicos são os responsáveis pelo sabor e aroma dos frutos (Tiitinen et al., 2006), sendo os ácidos orgânicos amplamente utilizados na indústria alimentícia como aditivos e antioxidantes.

Os minerais desempenham uma função vital no peculiar desenvolvimento e boa saúde do corpo humano, pois regulam o metabolismo de diversas enzimas, o equilíbrio ácido-base, a pressão osmótica, a atividade muscular e nervosa, facilitam a transferência de compostos essenciais através das membranas e, em alguns casos, fazem parte dos elementos constituintes dos tecidos do organismo (Morgano et al., 1999). As frutas são consideradas as principais fontes de minerais necessários na dieta humana (Gondim et al., 2005).

Já os lipídios desempenham um importante papel no que diz respeito à qualidade de certos produtos alimentares, particularmente em relação às propriedades sensoriais, que os tornam desejáveis (*flavor*, cor, textura). Por outro lado, conferem valor nutritivo aos alimentos, constituindo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (ácidos linoleico, linolênico) e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K).

Muito pouco se sabe dos constituintes químicos da jabuticaba, especialmente relativo às frações do fruto, casca e semente. Alguns estudos na literatura são apenas relativos a minerais e açúcares da variedade Sabará (Barros et al., 1996; Sato & Cunha, 2007).

Neste trabalho objetivou-se analisar o fruto inteiro e suas frações (casca, polpa e semente), de 2 variedades (Paulista e Sabará) de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg), quanto aos teores de açúcares, ácidos orgânicos, minerais, vitamina C e a composição lipídica, a fim de incentivar o reaproveitamento do fruto, principalmente das frações casca e semente, que correspondem a aproximadamente 50% do fruto (Lima et al., 2008), como alternativa nutritiva de dieta de baixo custo, na indústria alimentícia e cosmética.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras

Jaboticabas maduras de duas variedades, Paulista e Sabará, foram colhidas pela manhã, na fazenda São José do Imeril, município de Coqueiral, MG. Em seguida, foram selecionadas, lavadas, sanificadas com hipoclorito de sódio ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) por imersão de 10 minutos, pesadas e separadas em fruto inteiro e em frações (casca, polpa e semente) e cada uma dessas partes foram pesadas e separadas para se obter três repetições. A parte destinada à análise de frutos inteiros foi triturada em liquidificador por 2 minutos, congelada em porções de peso conhecido e liofilizadas até peso constante. Os frutos foram esmagados sobre uma peneira grossa, separando-se as cascas, sementes e polpa, que foram embaladas, pesadas, congeladas e liofilizadas até peso constante.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial  $4 \times 2$ , sendo 4 as frações: fruto inteiro, casca, polpa e semente, e 2 variedades de jaboticabas com 3 repetições. A análise estatística foi feita empregando-se o programa SISVAR (Ferreira, 2003), sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

### 4.2 Análises

#### 4.2.1 Determinação colorimétrica de açúcares

Os açúcares totais foram extraídos pelos métodos de Lane-Enyon Association of Official Agricultural Chemists, AOAC (1990) e determinados pelo método de Somogyi, adaptado por Nelson (1944).

#### **4.2.2 Preparo de amostras para determinação de açúcares e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência**

A extração para determinação de açúcares e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foi feita com agitação de 3 g de cada amostra com 20 mL de água destilada, centrifugação em 10.000 x g por 10 minutos a 30°C. Os resíduos foram lavados por quatro vezes com a mesma quantidade de água, para remoção de todo açúcar, e os sobrenadantes, combinados. Os extratos foram liofilizados para concentração e redissolvidos em 10 mL de água destilada. Os extratos das frações cascas, sementes e frutos inteiros foram submetidos a uma coluna de vidro de 17 cm de comprimento por 1,5 cm de diâmetro com 20 g de resina de troca iônica catiônica Amberlite IR120H, previamente tratada, para a remoção dos pigmentos, para que fossem levadas ao cromatógrafo e não causassem danos ao detector de índice de refração.

Foram recolhidos 5 mL do extrato incolor da porção média do total introduzido e, posteriormente, foram filtrados em membranas Millipore, GV (Durapore) de porosidade de 0,22 µm, assim como os extratos das polpas (que não foram percoladas pela coluna de troca iônica, por não serem pigmentadas) antes de serem levados para análise cromatográfica.

O mesmo extrato foi utilizado para a determinação qualitativa de ácidos orgânicos.

##### **a) Determinação de açúcares**

Foi utilizado cromatógrafo de fase líquida Shimatzu, modelo LC-10AI (Shimatzu Corp., Japão), equipado com bomba (modelo LC-10AI). Para a análise dos carboidratos, foi utilizado detector de índice de refração (modelo RID-10 A), coluna C18 Zorbax (Agilent), de 4,6 x 250 mm x 5 µm. A fase móvel foi acetonitrila desgaseificada em banho ultrassônico e bomba de vácuo. O fluxo foi de 0,8 mL min.<sup>-1</sup> a uma temperatura de 30°C. A quantificação foi

feita por comparação com curva analítica de 7 pontos, utilizando-se padrões de glicose, frutose e sacarose da Supelco.

#### **b) Determinação de ácidos orgânicos**

Para a análise de ácidos orgânicos, utilizou-se detector UV- visível (modelo SPD -10AD), com comprimento de onda de 210 nm; temperatura de forno de 50°C, com fluxo de 0,6 mL min<sup>-1</sup>. A coluna utilizada foi de troca iônica catiônica Shim-Pack SCR 101H de 7,9 mm x 300 mm e a fase móvel foi água ultrapura, com pH ajustado para 2,1 com ácido perclórico qualidade HPLC. Foram utilizados padrões certificados de ácido acético (Merck), ácidos succínico, oxálico, cítrico e málico (Supelco), para a identificação dos ácidos.

### **4.2.3 Determinação de vitamina C**

#### **a) Preparação das amostras**

A extração para a análise cromatográfica de vitamina C foi feita com 0,5 g de amostras liofilizadas em 50 mL de ácido oxálico e 0,1 g de terra de infusório, sob agitação por 15 min em agitador horizontal e, posteriormente, filtrado em papel Whatman nº 40 (Strohecker & Henningg, 1967). Os extratos foram filtrados em membrana Millipore de 0,22 µm, antes de serem levados ao cromatógrafo.

#### **b) Análise cromatográfica**

Foi utilizado um cromatógrafo líquido da marca Shimadzu LC 20 A, detector UV-Vis sendo os cromatogramas a 254 nm; bomba quaternária, degaseificador e injeção automática. Foram utilizadas coluna C18 Nucleosil (250 x 4,6 mm x 5 µm) e pré-coluna C18 (15 x 3,2 mm x 7 5 µm). Como fase móvel, foi utilizado um tampão de pH de 6,7, contendo acetato de sódio 0,04 mol L<sup>-1</sup>, EDTA 0,05 mol L<sup>-1</sup>, fosfato de tributilamônio 0,5 mol L<sup>-1</sup> de modo

isocrático, com fluxo de  $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ , com um tempo de corrida de 15 minutos para cada amostra (Silva et al., 2009). Foi feita uma curva analítica com 7 pontos, em triplicata com ácido ascórbico ( $1 \text{ a } 100 \text{ mg L}^{-1}$ ) para comparação dos tempos de retenção e quantificação da vitamina C, nos extratos dos frutos inteiros e das frações das duas variedades de jaboticaba.

Todos os reagentes utilizados foram de grau HPLC e água Milli-Q.

#### **4.2.4 Determinação de minerais**

Para a análise de minerais, foi feita uma digestão nitroperclórica à quente, com 0,5 g de cada amostra liofilizada. Ao final da digestão o volume do extrato foi completado para 15 mL com água deionizada. Nessa digestão, ocorre a retirada dos minerais dos compostos orgânicos da amostra ou que estão adsorvidos a eles. As análises de cálcio, magnésio, cobre, manganês, ferro e selênio foram feitas por espectrofotometria de absorção atômica, utilizando-se um aparelho modelo SpectrAA 110, (Varian INE), calibrado em condições específicas de comprimento de onda, fenda e mistura dos gases para cada elemento. Fósforo e enxofre foram analisados por espectrofotometria de UV/Vis, em aparelho Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis e sódio e potássio foram analisados por fotometria de emissão de chama, em aparelho Micronal B262. Para todas as análises, utilizaram-se os procedimentos descritos por Malavolta et al. (1989).

Para a construção das curvas analíticas com 5 pontos cada uma, foram utilizadas ampolas de padrões (Titrisol, Merck), água ultrapura (Milli-Q) e as concentrações variaram de acordo com as amostras.

#### **4.2.5 Determinação da composição dos lipídeos**

##### **a) Extração do lipídeo**

A extração dos lipídeos das cascas e sementes das duas variedades de jabuticaba foi feita pelo aparelho Soxhlet, utilizando cartuchos com 10 g de amostra e éter de petróleo como solvente de arraste, em temperatura de 63°C por 3 horas, tendo sido feitas várias extrações. Após a extração, o solvente foi evaporado e o óleo recolhido e armazenado em frasco âmbar.

Não foi realizada a caracterização de lipídeos das polpas, em razão dos baixíssimos teores encontrados nessa fração.

##### **b) Cromatografia de camada delgada**

O óleo da casca e semente das duas variedades de jabuticaba foram cromatografados em placas de sílica gel, empregando-se como fase móvel hexano/clorofórmio (60:40). Após ser verificado que as cascas das duas variedades apresentaram a mesma constituição, foram cromatografadas juntamente com óleos de sementes das duas variedades, constatando-se terem praticamente a mesma composição. O revelador empregado foi o anisaldeído, com posterior aquecimento em placa aquecida a 105°C.

##### **c) Análise da composição química do óleo**

Cerca de 1 mg das amostras foi solubilizado em 2 mL de diclorometano e a essa solução adicionaram-se algumas gotas de uma solução éterea de diazometano para a metilação dos ácidos graxos. Posteriormente, evaporaram-se os solventes com o auxílio de gás nitrogênio. Finalmente, as amostras, isentas de solvente, foram novamente solubilizadas em diclorometano para serem analisadas no cromatógrafo gasoso de alta resolução, acoplado à espectrometria de massas (CGAR-EM). Empregou-se a CGAR-EM para a separação e caracterização química dos componentes presentes no extrato de cascas e

sementes das duas variedades de jabuticaba. Todas as análises foram realizadas com uma mesma programação do forno cromatográfico. Utilizou-se uma coluna capilar cromatográfica DB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) e 1 µL de cada amostra solubilizada em diclorometano foi injetado, utilizando-se a técnica de agulha aquecida. A corrida cromatográfica iniciou-se em 80°C, aumentando-se gradativamente 5°C por minuto até a temperatura de 270°C, permanecendo em isoterma por 15 minutos. O modo de injeção foi com divisão de fluxo (10:1) e as temperaturas do injetor e da linha de transferência foram de 270°C e 280°C, respectivamente. O gás de arraste empregado foi o hélio (1000,0 psi) e o tempo de não detecção do solvente foi de 5 minutos. Os espectros de massa foram obtidos na faixa de 50 a 800 Da e a espectroteca empregada foi a Wiley 275 (G1034C, Versão C0300-Hewlett-Packard 1984-1994).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Açúcares

Os resultados da determinação colorimétrica de açúcares solúveis totais, redutores e não redutores do fruto inteiro e suas frações casca, polpa e semente são mostrados na Tabela 1.

A quantidade de açúcares encontrada na casca e semente foi muito elevada. Parte desses provavelmente se deve aos açúcares da polpa que ficaram aderidos, apesar dos esforços de se separar bem as frações. A semente de jabuticaba apresenta uma camada mucilaginosa aderida a ela, que, apesar de ter sido esfregada sobre uma peneira, não foi lavada, após a separação. O mesmo aconteceu com a casca. Os teores de açúcares tiveram ligeira diferença entre as variedades e entre as frações, principalmente entre as cascas e sementes.

Barros et al. (1996), analisando açúcares na polpa de jabuticaba da variedade Sabará, de frutos em desenvolvimento, e utilizando a mesma metodologia do presente trabalho, encontraram na polpa,  $60 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  de açúcares totais em matéria seca, e  $49 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  de açúcares redutores, e nas cascas e sementes, quantidades bem menores das encontradas no presente trabalho. Essa diferença pode ser devida ao fato de as amostras terem sido colhidas no mês de julho, mês de inverno, quando o fotoperíodo é menor, com conseqüente queda na quantidade de açúcar do fruto.

Já Sato & Cunha (2007), analisando polpa fresca de jabuticaba da variedade Sabará, encontraram  $11,80 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  de açúcares totais e  $9,8 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  de açúcares redutores: transformando os teores encontrados nas polpas liofilizadas do presente trabalho em matéria fresca, a variedade Paulista apresentou  $12,84 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  para açúcares totais e  $9,93 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  para açúcares

redutores e a variedade Sabará, 11,34 g 100 g<sup>-1</sup> para açúcares totais e 9,74 g 100 g<sup>-1</sup> para açúcares redutores, resultados esses muito semelhantes.

TABELA 1 Açúcares solúveis totais, açúcares redutores e não redutores dos frutos inteiros e suas frações de duas variedades de jabuticaba (g 100g<sup>-1</sup> MS).

<b>Paulista</b>	<b>Açúcares totais</b>	<b>Açúcares redutores</b>	<b>Açúcares não-redutores</b>
Casca	46,57 ± 0,43 b B	44,72 ± 0,43 c B	1,76 ± 0,00 a A
Polpa	79,78 ± 2,21 c B	61,71 ± 4,06 d A	17,17 ± 1,76 c B
Semente	32,77 ± 2,14 a A	29,64 ± 2,29 a A	2,97 ± 0,24 a A
Fruto inteiro	48,33 ± 1,16 b A	40,21 ± 0,79 b A	7,70 ± 1,22 b A
<b>Sabará</b>			
Casca	38,93 ± 1,56 a A	33,24 ± 1,74 a A	5,41 ± 0,88 b B
Polpa	75,37 ± 1,00 c A	64,74 ± 0,43 c A	10,10 ± 0,86 c A
Semente	36,42 ± 1,57 a B	33,15 ± 1,57 a B	3,11 ± 0,00 a A
Fruto inteiro	45,91 ± 2,07 b A	39,46 ± 1,19 b A	6,13 ± 0,92 b A
CV (%)	3,22	4,43	13,77

Os dados são a média de 3 repetições ± desvio-padrão.

Letras minúsculas na coluna comparam entre as frações e letras maiúsculas na coluna comparam entre as variedades. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P ≤ 0,05). Teor de umidade das amostras: capítulo 2, item 3.

Na análise por CLAE, os mesmos açúcares, frutose, glicose e sacarose foram encontrados no fruto inteiro e nas frações das duas variedades de jabuticabas. Entretanto, parte dos açúcares dessas frações ficou adsorvido na resina de troca iônica, usada para remoção dos pigmentos, não sendo possível quantificá-los corretamente. Portanto, quantificaram-se apenas os açúcares das polpas (Tabela 2), cujos extratos não foram percolados na coluna de troca iônica.

Dos açúcares, a frutose apresentou maiores teores que a glicose e estes maiores que a sacarose (açúcar não redutor), em conformidade com a análise

colorimétrica. A variedade Paulista apresentou maiores teores de glicose que a Sabará, nesta variedade, os teores de sacarose foram maiores.

TABELA 2 Açúcares ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ ) nas polpas de duas variedades de jabuticaba por CLAE.

<b>Variedade</b>	<b>Frutose</b>	<b>Glicose</b>	<b>Sacarose</b>
Paulista	$38,25 \pm 4,57$	$32,87 \pm 3,25$	$9,87 \pm 0,27$
Sabará	$32,96 \pm 2,68$	$26,40 \pm 0,60$	$11,69 \pm 0,21$

Os dados são a média de 3 repetições  $\pm$  desvio-padrão.

Teor médio de umidade das polpas: Paulista:  $83,91 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ; Sabará:  $84,95 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ .

A soma dos açúcares na análise cromatográfica na variedade Paulista foi de  $80,99 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ , sendo a soma dos açúcares redutores e sacarose no método colorimétrico de aproximadamente  $78,88 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ . Na variedade Sabará, a soma no método cromatográfico foi de  $71,05 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$  e  $74,84 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$  no colorimétrico, mostrando coerência nas duas metodologias. Não foram encontradas na literatura, estudos sobre os açúcares em jabuticaba, por cromatografia, para comparação dos resultados.

Na Figura 1 é mostrado o cromatograma e respectivos tempos de retenção de uma amostra de polpa da variedade Paulista.

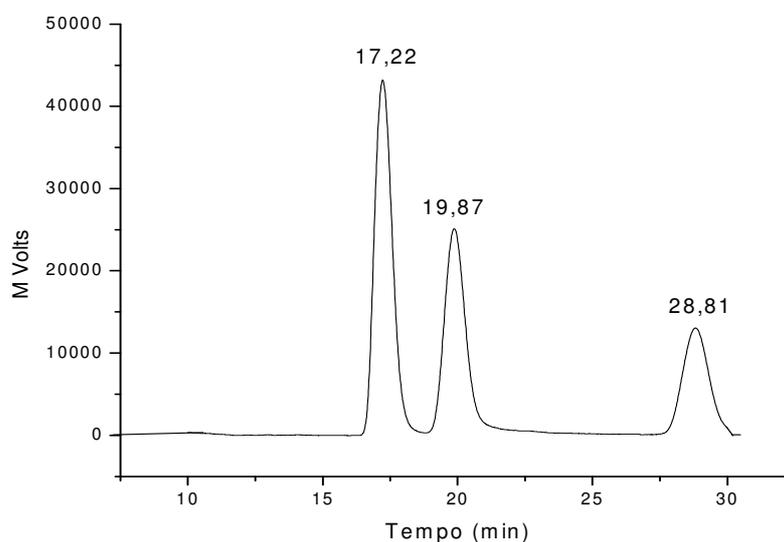


FIGURA 1 Cromatograma de açúcares da polpa de jabuticaba var. Paulista, por CLAE. O pico aos 17,22 min. refere-se à frutose; aos 19,87 min. à glicose; e aos 28,81 min., à sacarose. As condições cromatográficas estão descritas no subitem 2.2.2.a de material e métodos.

## 5.2 Ácidos orgânicos

Foram encontrados, no fruto inteiro e na fração polpa das duas variedades de jabuticaba, os ácidos cítrico, succínico, málico, acético e oxálico, apresentando-se na seguinte ordem: ácido cítrico > ácido succínico > ácido málico > ácido oxálico > ácido acético; os ácidos oxálico e acético aparecem em quantidades muito baixas, como é mostrado na Figura 2. Nas cascas e sementes, os ácidos succínico e cítrico aparecem como majoritários. Os ácidos málico e acético aparecem em quantidades muito baixas (Figura 3). Como a resina de troca iônica adsorveu parte dos ácidos, eles não foram quantificados.

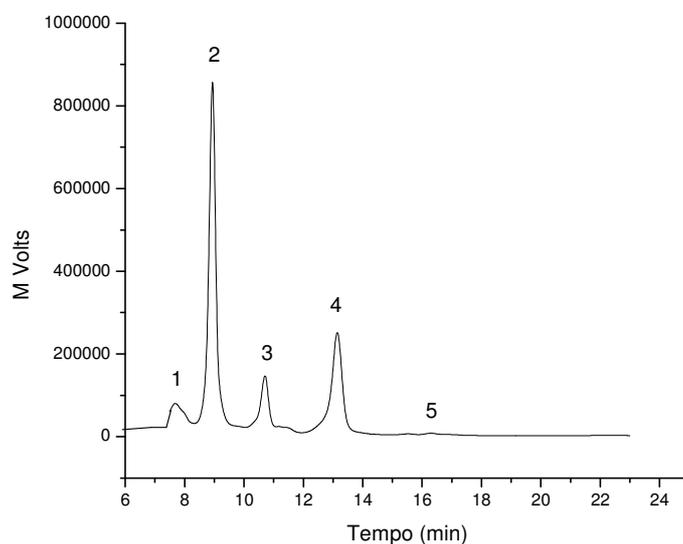


FIGURA 2 Cromatograma de ácidos orgânicos da polpa de jabuticaba var. Sabará, por CLAE. Picos: 1 = Ác. oxálico; 2 = Ác. cítrico; 3 = Ác. málico; 4 = Ác. succínico; 5= Ác. acético. As condições cromatográficas estão descritas no subitem 2.2.2. b de material e métodos.

Jham et al. (2007) analisaram os ácidos orgânicos nas polpas e cascas de jabuticabas dessas duas variedades colhidos na região de Viçosa, MG. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa e líquida, do 20<sup>o</sup> ao 42<sup>o</sup> dia após a floração, durante o desenvolvimento dos frutos, não informando se, ao 42<sup>o</sup> dia, esses frutos estavam maduros. Os autores encontraram apenas 3 ácidos orgânicos, sendo os maiores teores de ácido succínico, seguido de ácido cítrico e apenas traços de ácido málico. Esses pesquisadores verificaram que, nas polpas, os teores de ácido cítrico diminuíram até 50% com o tempo e o ácido succínico diminuiu quase 77% na Sabará e mais de 95% na Paulista. Nas cascas, os resultados foram mais diferenciados entre uma variedade e outra. Na Sabará, os teores de ácido cítrico mantiveram-se praticamente inalterados do 20<sup>o</sup> ao 42<sup>o</sup>

dias, enquanto na Paulista houve um aumento de 100%. Já para o ácido succínico houve queda de mais de 76% na Sabará e 57% na Paulista. Verifica-se que os ácidos orgânicos têm os seus teores alterados em função do desenvolvimento e maturação do fruto.

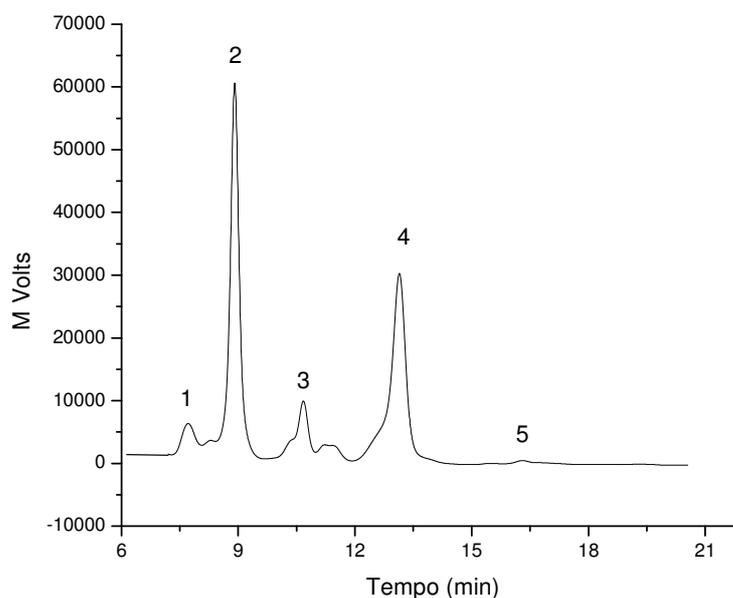


FIGURA 3 Cromatograma de ácidos orgânicos da casca de jabuticaba var. Paulista por CLAE. Picos: 1 = Ác. oxálico; 2 = Ác. cítrico; 3 = Ác. málico; 4 = Ác. succínico; 5 = Ác. acético. As condições cromatográficas estão descritas no sub item 2.2.2.b de material e métodos.

Possivelmente os maiores teores de ácido succínico que cítrico encontrados na polpa, no trabalho citado, seja devido ao método de extração empregado, que pode ter favorecido a extração do ácido succínico, ou por outro fator, como época de colheita, adubação, irrigação, intensidade solar, cultivar e

temperatura (Davey et al., 2000), que também podem influenciar os níveis de ácidos orgânicos.

### 5.3 Vitamina C

As análises cromatográficas para quantificação de vitamina C, nas frações das duas variedades de jabuticaba (Tabela 3), mostraram que as cascas apresentaram os maiores teores, tendo a variedade Sabará se destacado. As sementes também apresentaram teores superiores aos das polpas.

Na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, (Taco, 2006) da Unicamp, é mostrado um teor de vitamina C de  $16,2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  na polpa fresca de jabuticaba. Hernandez et al. (2006), analisando vitamina C em frutas frescas por diferentes métodos, encontraram teores para a laranja de  $66 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  e para o mamão, de  $149 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ , empregando solução de ácido metafosfórico e acético como extrator e análise por CLAE. Odriozola-Serrano et al. (2007) encontraram  $59,10 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  de vitamina C para o morango, fruto com maior teor de vitamina C, entre os analisados.

TABELA 3 Teores de vitamina C ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  MS) por CLAE, no fruto inteiro e suas frações, de duas variedades de jabuticaba.

<b>Amostra</b>	<b>Paulista</b>	<b>Sabará</b>
Casca	$246,28 \pm 9,24 \text{ b A}$	$298,23 \pm 40,53 \text{ c A}$
Polpa	$163,38 \pm 7,56 \text{ a A}$	$167,54 \pm 1,42 \text{ a A}$
Semente	$204,78 \pm 12,81 \text{ b A}$	$212,40 \pm 18,02 \text{ b A}$
Fruto Inteiro	$221,76 \pm 40,40 \text{ b A}$	$265,68 \pm 4,17 \text{ c B}$
<b>CV ( %)</b>	<b>10,69</b>	

Os dados são a média de 3 repetições  $\pm$  desvio padrão. Letras minúscula na coluna comparam entre as frações, letras maiúsculas na linha comparam entre as variedades. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ). Teor de umidade das amostras: capítulo 2, item 3.

Expressando os resultados do presente trabalho em matéria úmida, esses valores passariam para 59,50; 26,29; 60,55; e 43,57 mg 100g<sup>-1</sup> na casca, polpa, semente e no fruto inteiro, respectivamente, na variedade Paulista e 47,00; 25,21; 60,58 e 54,70 mg 100 g<sup>-1</sup> na casca, polpa, semente e no fruto inteiro, respectivamente, na variedade Sabará. Assim, os níveis encontrados nas polpas das duas variedades de jabuticaba foram superiores aos encontrados na TACO (2006), o que pode ser devido à época de colheita, adubação e irrigação, entre outros fatores. Verifica-se que esses teores são normalmente encontrados em frutas, mas em valores inferiores em frutos considerados muito ricos em vitamina C, como a acerola, que contém 1.500 mg 100 g<sup>-1</sup> (Yamashita et al.,2003).

A ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina C é de 60 mg. A ingestão de 100 g de polpa *in natura* de jabuticaba (fração com menores teores da vitamina) representa 41,67% das necessidades diárias, porcentagem bastante satisfatória. As sementes e cascas mostram-se, assim, boas fontes de vitamina C, podendo ser utilizadas para o enriquecimento de alimentos e cosméticos.

#### **5.4 Minerais**

O sódio tem maiores teores na semente da Sabará quando comparada com a variedade Paulista; entretanto, apresenta-se igualmente distribuído nas frações e fruto inteiro. Na variedade Paulista, com exceção da semente, a casca, polpa e fruto inteiro também apresentaram igual teor de sódio.

O potássio foi o elemento, entre os analisados, que apresentou teores mais elevados, sendo maior na fração casca e no fruto inteiro da variedade Sabará (Tabela 4). Nas polpas, os teores foram iguais entre as variedades, e nas sementes, a variedade Paulista apresentou teores maiores que a Sabará.

TABELA 4 Minerais ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  MS) no fruto inteiro e em suas frações de duas variedades de jabuticaba.

<b>Paulista</b>	<b>Cálcio</b>	<b>Potássio</b>	<b>Magnésio</b>	<b>Sódio</b>	<b>Fósforo</b>
Casca	50,00 ± 10,00 a A	1.206,67 ± 56,86 c A	80,00 ± 0,05 b A	62,18 ± 2,86 b A	63,33 ± 5,77 b A
Polpa	43,33 ± 5,77 a A	1.003,33 ± 32,15 a A	66,67 ± 5,77 a A	63,35 ± 0,51 b A	53,33 ± 5,77 a A
Semente	70,00 ± 10,00 b B	1.006,67 ± 30,55 a B	110,00 ± 10,00 c A	54,17 ± 4,73 a A	106,67 ± 5,77 d A
Fruto Inteiro	60,00 ± 0,00 b A	1.113,33 ± 60,28 b A	86,67 ± 5,77 b A	60,76 ± 1,82 b A	73,33 ± 5,77 c A
<b>Sabará</b>					
Casca	56,67 ± 5,77 a A	1.496,67 ± 5,77 d B	90,00 ± 0,05 b B	61,10 ± 2,05 a A	63,33 ± 5,77 a A
Polpa	53,33 ± 5,77 a A	1.026,67 ± 56,67 b A	73,33 ± 5,77 a A	62,55 ± 0,16 a A	56,67 ± 5,77 a A
Semente	56,67 ± 5,77 a A	930,00 ± 17,32 a A	116,67 ± 5,77 d A	62,19 ± 2,00 a B	110,00 ± 5,77 c A
Fruto Inteiro	56,67 ± 5,77 a A	1.180,00 ± 10,00 c B	100,00 ± 0,06 c B	61,12 ± 1,96 a A	76,67 ± 5,77 b A
<b>CV (%)</b>	12,13	3,04	5,97	3,89	7,16
<b>Paulista</b>	<b>Cobre</b>	<b>Mangans</b>	<b>Ferro</b>	<b>Enxofre</b>	<b>Selnio</b>
Casca	0,86 ± 0,04 b A	1,69 ± 0,52 b A	1,77 ± 0,06 a A	Traços	Traços
Polpa	0,65 ± 0,04 a A	1,13 ± 0,08 a A	ND	Traços	Traços
Semente	1,19 ± 0,02 c A	0,90 ± 0,17 a A	3,75 ± 0,08 b A	Traços	Traços
F. Inteiro	0,87 ± 0,01 b A	1,30 ± 0,02 a A	5,92 ± 0,83 c B	Traços	Traços
<b>Sabará</b>					
Casca	0,89 ± 0,06 b A	1,71 ± 0,11 b A	1,68 ± 0,02 a A	Traços	Traços
Polpa	0,69 ± 0,02 a A	1,24 ± 0,02 a A	ND	Traços	Traços
Semente	1,46 ± 0,01 c B	1,04 ± 0,05 a A	5,22 ± 0,17 c B	Traços	Traços
F. Inteiro	0,93 ± 0,03 b B	1,27 ± 0,04 a A	2,59 ± 0,23 b A	Traços	Traços
<b>CV (%)</b>	3,34	16,65	5,43		

Os dados são media de 3 repetições ± desvio-padrao. Letras minusculas na coluna comparam entre as frações e maiusculas comparam entre as variedades. Letras iguais nao diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ). ND = Nao determinado.

As frutas normalmente são ricas em potássio, principalmente as cascas. Segundo Vanillo et al. (2006), o potássio é um elemento que apresenta grande mobilidade nas plantas, devido à sua pouca afinidade em formar quelatos orgânicos, explicando, assim, a sua grande quantidade nos tecidos vegetais.

Souza (1992) analisou minerais nas frações de jabuticaba, variedade Sabará durante seu desenvolvimento, por espectrometria de absorção atômica e fotometria de chama e encontrou teores aproximados de 1.267 mg 100 g<sup>-1</sup> de potássio na casca; 1.209 mg 100 g<sup>-1</sup> na polpa e 585 mg 100 g<sup>-1</sup> na semente de jabuticaba em matéria seca (MS). Comparando-se com os resultados do presente trabalho, observa-se que há diferenças e essas provavelmente são devidas a diversos fatores, como grau de maturidade, fertilização do solo, irrigação, intensidade de luz recebida e temperatura.

Gondim et al. (2005), analisando cascas de frutas secas, verificaram que dos minerais analisados, o potássio apresentou a maior concentração, sendo a tangerina *in natura* a que apresentou os maiores teores: 598,36 mg 100 g. Abaixo do potássio, o cálcio e o magnésio foram os minerais mais abundantes nas cascas das frutas analisadas pelos autores acima citados.

O magnésio neste trabalho também apresentou elevados teores, assim como o fósforo, sódio e o cálcio. As sementes das duas variedades têm os maiores teores de magnésio, que se sobressai também no fruto inteiro e na casca na variedade Sabará. Esse resultado está em conformidade com Souza (1992), que encontrou maiores teores de magnésio na semente, seguido da polpa e casca. Além da provável participação do magnésio na pigmentação verde do fruto, Souza (1992) observou acúmulo do mineral na casca de jabuticabas até próximo do final do ciclo do fruto e sugeriu que esse comportamento esteja relacionado ao acúmulo de antocianinas, uma vez que esse mineral, segundo Goodwin & Mercer (1983), está associado a alterações na cor desses pigmentos.

Os teores de fósforo são iguais entre as variedades, sendo na semente onde ocorre maior acúmulo desse mineral. A grande proporção de fósforo na semente pode estar associada à presença de fitina, composto tido como reserva de fósforo para a germinação (Mengel & Kirkby, 1987).

O cálcio apresentou-se bem distribuído entre as frações; a semente da variedade Paulista apresentou maiores teores (70 mg 100 g<sup>-1</sup> MS) que a semente da Sabará (56,67 mg 100 g<sup>-1</sup> MS).

As sementes também têm maiores teores de cobre, sendo mais elevada na variedade Sabará. O manganês já se sobressai nas cascas das duas variedades, provavelmente pelo fato de o manganês estar relacionado com a pigmentação do fruto. O manganês tem importante papel na manutenção da atividade fotossintética do fruto (Marschner, 1995).

Os teores de ferro apresentaram-se de forma irregular na fração semente e no fruto inteiro, entre as variedades, sendo as sementes mais ricas que as cascas. A determinação nas polpas não foi realizada.

Existem duas formas químicas do ferro nos alimentos: o ferro heme e não heme. O primeiro encontra-se na estrutura do anel porfirina, ligado à hemoglobina e mioglobina, representando cerca de 40% do ferro do tecido animal e sua absorção é elevada. As formas inorgânicas ou ferro não heme estão presentes tanto em tecidos animais como em todos os vegetais que contêm ferro; porém, são de baixa biodisponibilidade (Moura & Canniatti-Brazaca, 2006). O ferro também participa de enzimas como catalases e peroxidases, fazendo parte do grupo prostético “heme,” além de estar relacionado à ação antioxidante (Marschner, 1995).

Os elementos enxofre e selênio apareceram somente em quantidade de traços em todas as frações.

Foram efetuados cálculos dos percentuais de contribuição de mineral de cada fração em relação à ingestão diária recomendada (IDR) para um adulto (Tabela 5).

TABELA 5 Percentual da ingestão diária recomendada (IDR) para um adulto em relação a 100 g do fruto inteiro e suas frações de duas variedades de jabuticaba liofilizadas

<b>Paulista</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>P</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>
Casca	6,3	61,2	26,7	3,2	7,9	28,7	33,8	12,6
Polpa	5,4	50,9	22,2	3,3	6,7	21,7	22,6	-
Semente	8,8	51,0	36,7	2,8	13,3	39,7	18,0	26,8
Fr. inteiro	7,5	56,4	28,9	3,1	9,2	29,0	26,0	42,3
<b>Sabará</b>								
Casca	7,1	75,9	30,0	3,2	7,9	29,7	34,2	12,0
Polpa	6,7	52,0	24,4	3,2	7,1	23,0	24,8	-
Semente	7,1	47,1	38,9	3,2	13,8	48,7	20,8	37,3
Fr. inteiro	7,1	59,8	33,3	3,1	9,6	31,0	25,4	18,5

Observa-se que a jabuticaba não é boa fonte de cálcio, sódio e fósforo. A casca da variedade Sabará contém o equivalente a 75,9% das necessidades diárias de potássio e, mesmo as polpas e sementes que apresentam teores mais baixos, contribuem com aproximadamente 50% dos teores recomendados para esse nutriente, mostrando que a jabuticaba é uma ótima fonte de potássio. A fruta é boa fonte também de magnésio, manganês e cobre. As sementes são mais ricas em magnésio, cobre e ferro. Já as cascas contribuem mais com as necessidades de manganês. Pode-se verificar que as cascas e sementes analisadas, muitas vezes, apresentam quantidades de nutrientes maiores que suas respectivas partes comestíveis. A fruta na forma liofilizada (desidratada) é uma

excelente forma de utilização, para enriquecimento de alimentos e farinhas, podendo ser utilizada por um tempo muito maior, por estar desprovida de água.

### **5.5 Lipídeos**

Os óleos das sementes apresentaram cor amarelo-clara, cheiro e aspecto resinoso. Os óleos das cascas apresentaram cor verde escuro e também cheiro e aspecto resinoso.

Os teores de extrato etéreo encontrados nas polpas das duas variedades de jabuticabas foram muito baixos: 0,06 g 100 g<sup>-1</sup>MS na variedade Sabará e 0,21 g 100 g<sup>-1</sup>MS na Paulista (Tabela 2, cap. 2). Os teores nas cascas e sementes também não foram elevados: 0,53 e 0,68 g 100 g<sup>-1</sup>MS na fração semente e casca, respectivamente da variedade Paulista, e 0,58 e 0,57 g 100 g<sup>-1</sup>MS da Sabará. De acordo com análise em cromatografia de camada delgada (CCD) (Figura 4), os óleos apresentam constituição semelhante, tanto entre as variedades quanto entre as frações.

Os constituintes do lipídeo extraído das amostras foram identificados, por meio de seus respectivos ésteres metílicos, por comparação do espectro de massa correspondente a cada pico no cromatograma, com espectros de massa contidos em bancos de dados da biblioteca de padrões (Wiley 275).

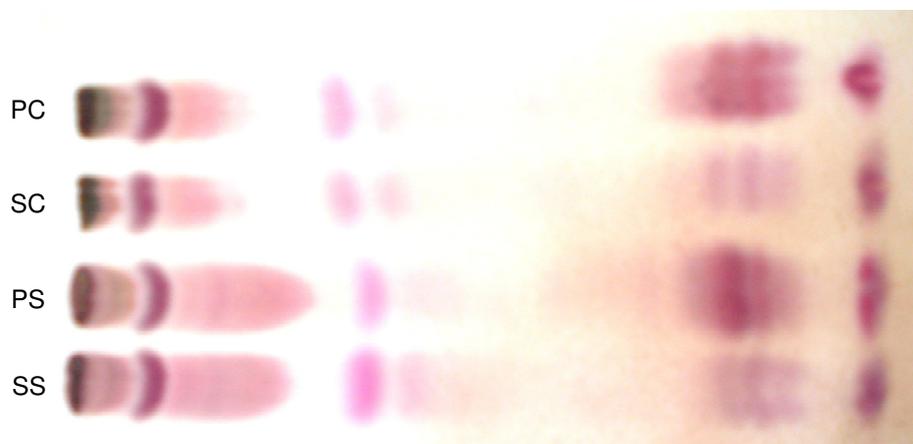


FIGURA 4 Cromatografia de camada delgada (CCD) do óleo de cascas e sementes de duas variedades de jaboticaba. PC= Paulista casca; SC= Sabará casca; PS = Paulista semente e SS = Sabará semente.

Os lipídeos extraídos das cascas das duas variedades de jaboticaba não puderam ser identificados devido a interferentes. Mas como a análise preliminar feita por CCD (Figura 4) indicou que a composição dos óleos extraídos das frações cascas e sementes parece ter constituição semelhante, podem-se considerar os compostos identificados no óleo de sementes como os mesmos dos óleos das cascas.

A análise dos lipídeos foi fundamentada na biblioteca eletrônica citada no subitem 2.2.5.c, considerando a probabilidade acima de 98%. Os triacilgliceróis normalmente são os constituintes majoritários dos óleos vegetais. Os constituintes minoritários são os monoglicerídeos e diglicerídeos, ácidos graxos livres, fosfatídeos, esteróis, alcoóis, vitaminas e outras substâncias ainda não identificadas (Freitas et al., 2008). Neste trabalho os lipídios não foram quantificados.

Nas Figuras 5 e 6 são apresentados os cromatogramas do óleo da semente de jabuticaba da variedade Sabará e Paulista, respectivamente. Na Tabela 6, são mostrados os compostos majoritários, seus tempos de retenção e respectivas áreas médias percentuais relativas.

Para a variedade Sabará, o composto mais abundante na semente foi um fitosterol, um intermediário ou produto de biossíntese de esteróis, que não pôde ser identificado apenas com o espectro de massas e pela biblioteca de padrões, apresentando uma área média relativa de 29,04%. O ácido linoleico (22,22 min.) com área de 10,48% e o ácido palmítico (19,07 min.), com área média de 6,23%, completam os 3 mais abundantes.

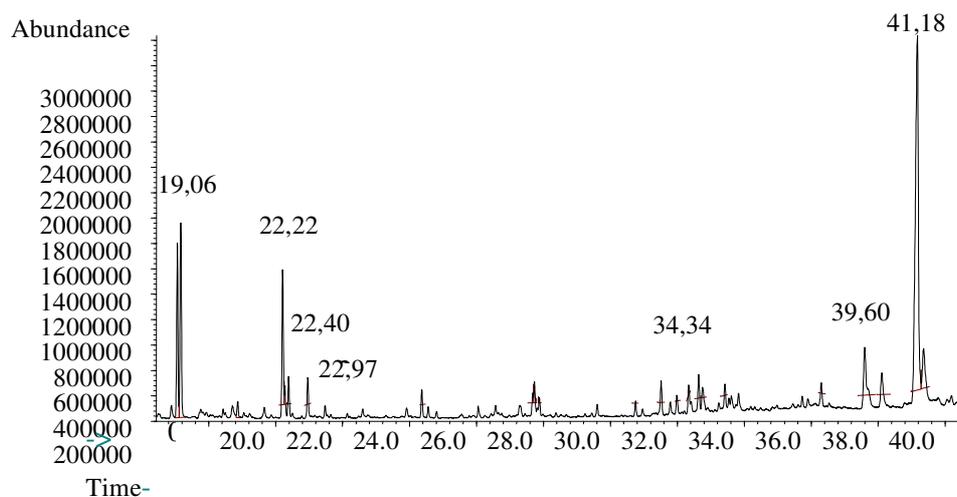


FIGURA 5 Cromatograma do óleo de semente de jabuticaba da variedade Sabará. Metodologia de análise está especificada no subitem 2.2.5.c de material e métodos.

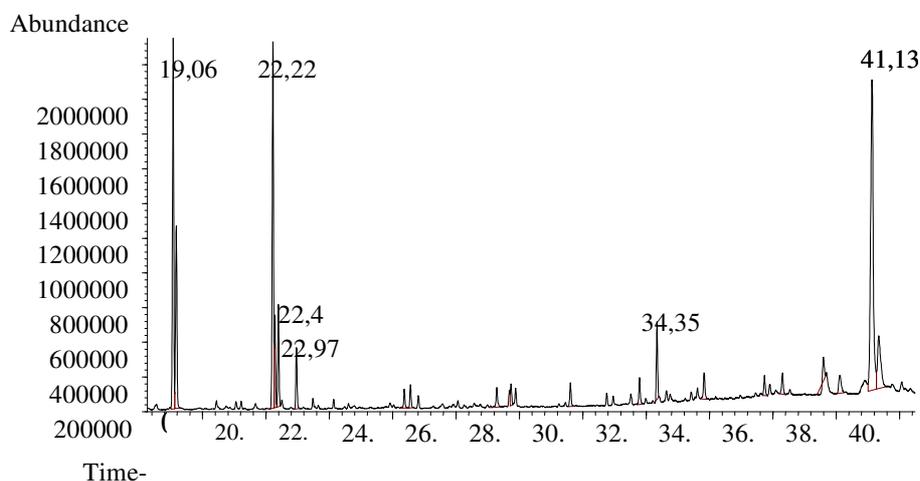


FIGURA 6 Cromatograma de óleo de semente de jabuticaba da variedade Paulista. Metodologia de análise está especificada no subitem 2.2.5.c de material e métodos.

TABELA 6 Área média (%) dos constituintes majoritários da fração lipídica das sementes liofilizadas de duas variedades de jabuticaba.

Constituinte	Tempo retenção (min.)	Área (%)	
		Paulista	Sabará
Ácido palmítico	19,07	15,23	6,23
Ácido linoleico	22,22	15,82	10,48
Ácido oleico	22,40	3,98	1,34
Esqualeno	34,34	4,49	1,68
Fitosterol (NI)*	41,11	24,15	29,04

\*NI. = Não identificado.

Foram identificados ainda o ácido oleico, com área de 1,34%, o ácido esteárico (22,97 min.) e o esqualeno (34,34 min.), com uma área de 1,68%. O pico em 39,60 min. também não pôde ser identificado (Figura 6).

Como foi verificado na CCD, a variedade Paulista apresentou praticamente os mesmos constituintes do óleo de semente da variedade Sabará. Apenas as proporções apresentaram-se diferente. O fitosterol não identificado também foi o composto majoritário, apresentando uma área média de 24,15%. O ácido linoleico vem seguido do ácido palmítico. O ácido oleico (22,40 min.) apresenta uma área média de 3,98%, e o esqualeno, de 4,49%.

Os espectros de massa dos compostos retidos em 19,06 min., 22,22 min. 22,29 min. e 34,34 min. identificados como ácido palmítico, linoleico, oleico e esqualeno, bem como os espectros de massa do composto não identificado retido em 41,13 min e espectros da biblioteca de padrões são mostrados no Anexo B.

A provável estrutura do composto majoritário na variedade Sabará, (fitosterol não identificado) mostrada na Figura 7, é um íon molecular de  $m/z = 414$  e fórmula molecular  $C_{29}H_{50}O$ .

O ácido palmítico (C16:0) é um ácido graxo saturado, enquanto os ácidos oleico (C18:1) e o linoleico (C18:2) são insaturados e aparecem no óleo de semente das duas variedades de jabuticaba. O ácido linoleico apresentou-se majoritário no óleo de sementes das duas variedades de jabuticaba e é considerado ácido graxo essencial, pois o organismo humano não consegue sintetizá-lo, sendo importante na alimentação.

Também no óleo de semente de uva, o ácido graxo mais abundante é o ácido linoleico, representando quase 70% dos constituintes, e o ácido oleico, em torno de 16% do óleo.

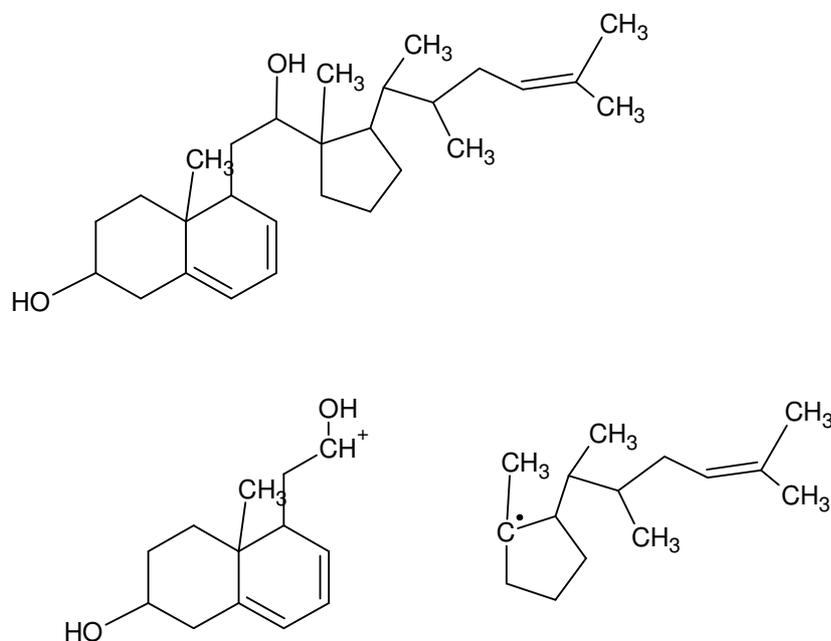


FIGURA 7 Provável estrutura do composto majoritário não identificado e respectivas partes ao se quebrar na espectrometria de massas.

A semente de uva apresenta ainda o ácido linolênico em quantidade inferiores a 1%, quando a extração é feita em Soxhlet, segundo as normas da AOAC (1990). O ácido palmítico é o ácido graxo saturado mais abundante na semente de uva (Freitas et al., 2008), no óleo de semente de maracujá (Ferrari et al., 2004) e na polpa do açaí (Menezes et al., 2008).

O esqualeno é um triterpeno que atua como precursor biossintético de todos os esteróis de plantas e animais. Apesar de presente em baixa concentração na fração lipídica da casca e semente da jaboticaba, o esqualeno é mais um constituinte que enriquece a fruta. Pesquisas demonstraram que o esqualeno apresenta ação antioxidante (Kohn et al., 1995), anticarcinogênica

(Ko et al., 2002), hipocolesterolêmica (Miettinen & Vanhanen, 1994) e cardioprotetora (Farvin et al., 2004).

A constituição do óleo de semente de jabuticaba mostrou-se bastante parecida com o óleo de semente de uva, devendo novos estudos ser feitos no sentido de identificar o fitosterol, já que não foi possível identificar e quantificar todos os constituintes, a fim de verificar se o óleo está dentro do padrão estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Anvisa (2009) para óleos comerciais.

## 6 CONCLUSÃO

As análises químicas e cromatográficas mostram que tanto o fruto inteiro, como as frações casca, polpa e semente liofilizados, podem ser considerados como fonte alternativa de minerais, principalmente ferro, potássio, magnésio e manganês, assim como de açúcares, ácidos orgânicos e vitamina C, tendo as cascas e sementes se destacado.

O óleo extraído das sementes e cascas tem características semelhantes ao óleo de semente de uva, muito utilizado na cosmética. Isso levanta a possibilidade de o óleo de jabuticaba ser também utilizado como matéria-prima para o desenvolvimento de formulações.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Ingestão diária recomendada (IDR) para proteínas, vitaminas e minerais**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[8989-1-0\].pdf](http://www.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[8989-1-0].pdf)>. Acesso em: 16 jan. 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington: AOAC, 1990.

BARROS, R. S.; FINGER, F. L.; MAGALHÃES, M. M. Changes in non-structural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 66, n. 3/4 p. 209-215, Oct. 1996.

DAVEY, M. W.; MONTAGU, M. van.; INZE', D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N. Plant L-ascorbic: chemistry, function, metabolism, bioavailable and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 825-860, May 2000.

FARVIN, K. H. S.; ANANDAN, R.; KUMAR, S. H. S.; SHINY, K. S.; SANKAR, T. V.; THANKAPPAN, T. K. Effect of squalene on tissue defense system in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. **Pharmacological Research**, London, v. 50, n. 3, p. 231-236, Sept. 2004.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 101-102, abr. 2004.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 4. 6 (build 61) software. Lavras: Dex/UFLA, 2003. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/danielff/dff02.htm>>. Acesso em: 18 jun. 2006.

FREITAS, L. dos S.; OLIVEIRA, J. V. de; DARIVA, C.; JACQUES, R. A.; CARAMÃO, E. B. Extraction of grape seed oil using compressed carbon dioxide and propane: extraction yields and characterization of free glycerol compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 8, p. 2558-2564, Apr. 2008.

GOMES, R. P. **Fruticultura brasileira**. 9. ed. São Paulo: Nobel, 1983. 446 p.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 825-827, out./dez. 2005.

GOODWIN, T. W.; MERCER, E. I. **Introduction to plant biochemistry**. Oxford: Pergamon, 1983. 677 p.

HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, London, v. 96, n. 4, p. 654-664, Aug. 2006.

JHAM, G. N.; FERNANDES, S. A.; GARCIA, C. F.; PALMQUIST, D. Comparison of GC and HPLC for quantification of organic acids in two jaboticaba (*Myrciaria*) fruit varieties. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 7, p.1529-1534, 2007.

KO, T. F.; WENG, Y. M.; CHIOU, Y. Y. Squalene content and antioxidant activity of Terminalia catappa leaves and seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 19, p. 5343-5348, Sept. 2002.

KOHNO, Y.; EGAWA, Y.; ITOH, S.; NAGAOKA, S.; TAKAHASHI, M.; MUKAI, K. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism**, Amsterdam, v. 1256, n. 1, p. 52-56, Apr. 1995.

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**, Campinas, v. 25, n. 4, p.726-732, oct./dic. 2005.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 58, n.4, p. 416-421, 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS, 1989. 201 p.

- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. San Diego: Academic, 1995. 889 p.
- MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SABAA SRUR, A. U. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 2, p. 311-316, 2008.
- MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 4. ed. Switzerland: International Potash Institute, 1987. 687 p.
- MESQUITA, F. R.; CORREA, A. D.; ABREU, C. M. P.; LIMA, R. A. Z.; ABREU, A. F. B. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, jul./ago. 2007.
- MIETTINEN, T. A.; VANHANEN, H. Serum concentration and metabolism of cholesterol during repressed oil and squalene feeding. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 59, n. 2, p. 356-363, Feb. 1994.
- MORGANO, M. A.; QUEIROZ, S. C. N.; FERREIRA, M. M. C. Determinação dos teores de minerais em sucos de frutas por espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 344-348, set./dez. 1999.
- MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 270-276, abr./jun. 2006.
- NELSON, N. A. A photometric adaptation of somogyi method for determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 153, n. 1, p. 375-380, Apr. 1944.
- ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. **Food Chemistry**, London, v. 105, n. 3, p.1151-1158, 2007.
- SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Influência da temperatura no comportamento reológico da polpa de jabuticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p.890-896, out./dez. 2007.

SILVA, P. A.; QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; SACZK, A. A. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de vitamina C em morango por HPLC. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32., 2009, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: SBQ, 2009. 1 CD-ROM.

SOUZA, R. B. **Acúmulo e distribuição de minerais no fruto de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg cv. Sabará) em desenvolvimento.** 1992. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Analisis de vitaminas: metodos comprobados.** Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.

TABELA Brasileira de Composição de Alimentos versão 2. Campinas: UNICAMP, 2006. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela&PHPSESSID=9be42781aa5e5ee461c17c2c739d2160>> . Acesso em: 12 jan. 2009.

TIITINEN, K. M.; YANG, B.; HARALDSSON, G. G.; JONSDOTTIR, S.; KALLIO, H. P. Fast analysis of sugar, fruits acids and vitamin C in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 7, p. 2508-2513, Apr. 2006.

UNDERHILL, S. J. R.; CRITCHLEY, C. The physiology and anatomy of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during fruit development. **Journal of Horticultural Science**, London, v. 67, n. 4, p. 437-444, 1992.

VANILLO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, E. O.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. BERG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 805-810, out./dez. 2006.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 92-94, jan./abr. 2003.

## CAPÍTULO 4

### ANTOCIANINAS, ESTABILIDADE DE PIGMENTOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM JABUTICABA E SUAS FRAÇÕES

#### 1 RESUMO

O crescente interesse pela utilização de antocianinas como corante alimentício e em formulações medicinais e cosméticas tem mostrado a necessidade de mais pesquisas para o desenvolvimento e aprimoramento de métodos analíticos para a extração, purificação, identificação e quantificação desses pigmentos, que têm comprovada ação antioxidante e, conseqüentemente, preventiva e terapêutica de várias doenças. Diferentes solventes foram testados para a extração de pigmentos antocianínicos, verificação da estabilidade dos pigmentos, quantificação de antocianinas totais, análise das antocianinas por CLAE e realização de testes antioxidantes no fruto inteiro e suas frações, casca, polpa e semente de duas variedades de jabuticaba. Obteve-se melhor extratibilidade das antocianinas por maceração da amostra com etanol 95% e etanol 50%, acidificados com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup> na proporção 85:15, que proporciona um pH em torno de 1,0 ao extrato, permitindo maior estabilidade do pigmento. A casca da jabuticaba é rica em antocianinas, apresentando 1,59 g 100g<sup>-1</sup> de matéria seca (MS) para a variedade Paulista e 2,06 g 100 g<sup>-1</sup> de MS para a variedade Sabará. As cascas das duas variedades apresentaram cianidina 3-glicosídeo como pigmento majoritário, seguido por delphinidina 3-glicosídeo, este último não estando presente na polpa. Não foi encontrada antocianina nas sementes das variedades analisadas. Foram realizados 3 testes antioxidantes, em que principalmente as cascas demonstraram atividade antioxidante, tanto na captura de radical livre (teste ABTS e fosfomolibdênio) quanto no retardo do processo de oxidação lipídica (teste β-caroteno/ácido linoleico).

**Palavras-chave:** Jabuticaba, antocianinas, extração, estabilidade, atividade antioxidante.

## ANTOCIANINS, PIGMENT STABILITY, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF JABUTICABA FRUIT AND ITS FRACTIONS

### 2 ABSTRACT

The increasing interest of using anthocyanins as food coloring and in medical and cosmetic formulas has shown the need for more research in methods for extraction, purification, identification and quantification of these pigments, which have antioxidant activity, and consequently, preventive and therapeutic action upon several diseases. Several solvents were tested for anthocyanic pigment extraction, in order to evaluate the pigment stability and to quantify total anthocyanins. HPLC analysis and antioxidant tests on the whole fruit and its fractions (skin, pulp and seeds) of two jabuticaba varieties were used. The best extractability was achieved by the maceration of the sample with ethanol 95% and ethanol 50%, acidified with HCl 1.5 mol L<sup>-1</sup>, in the proportion of 85:15; the extract had a pH of about 1.0, which allowed higher pigment stability. The skin fraction showed to be rich in anthocyanins, with 1.59 g 100 g<sup>-1</sup> in the Paulista variety and 2.06 g 100 g<sup>-1</sup>, in the Sabara variety. The skin fractions of both varieties had the cyanidin 3-*glucoside* as majority pigment, followed by delphinidin 3-*glucoside*, which is also present in pulp fractions of both varieties. From all the three antioxidant tests, mainly the skin fractions showed to have antioxidant activity, by the free-radical capture test (ABTS test and phosphomolybdenum test) and delayed-fat oxidation process ( $\beta$ -caroten/linoleic acid test).

**Keywords:** Jabuticaba, anthocyanins, extraction, stability, antioxidant activity.

### 3 INTRODUÇÃO

A jabuticaba é uma fruta genuinamente brasileira, da família das Myrtaceas, sendo as variedades mais difundidas pertencentes ao gênero *Myrciaria*. Encontra-se amplamente distribuída, principalmente no sul e sudeste brasileiros.

A jabuticaba é um fruto rico em polifenóis, apresentando, respectivamente, em g 100 g<sup>-1</sup> de MS, 11,18; 0,45; 7,54 e 6,49 nas cascas, polpa, semente e fruto inteiro da variedade Paulista e 11,99; 0,49, 8,56 e 8,51 nas cascas, polpa, semente e fruto inteiro de variedade Sabará (Lima et al., 2008). Entre os polifenóis, estão as antocianinas, que são pigmentos da classe dos flavonoides, responsáveis pela coloração vermelha, azul e roxa de muitas flores e frutos. Nos frutos, os pigmentos estão presentes principalmente nas cascas (Terci, 2004). O vasto repertório de cores é resultado do complexo entre esses polifenóis, pectinas e íons metálicos.

Entre os principais papéis biológicos das antocianinas, estão a atração de insetos, fotoproteção, antioxidantes endógenos, modulação da fotoinibição e potencialização da fotossíntese (Mazza & Miniati, 1993). A atividade antioxidante de flavonoides em seres vivos tem sido comprovada por diversas pesquisas e verificou-se que esta propriedade é dependente da espécie vegetal, origem geográfica e época de colheita e que têm a capacidade de inibir e reduzir as lesões causadas pelos radicais livres nas células, oriundos do metabolismo celular (Lima & Guerra, 2003).

A antocianina é constituída por duas ou três porções: uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, frequentemente, um grupo de ácidos orgânicos (Malacrida & Motta, 2006). Quimicamente, apresentam como estrutura básica o cátion 2-fenilbenzopirídium, mais comumente chamado de

cátion flavílio. Das antocianinas encontradas na natureza, apenas seis estão presentes em alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, petunidina, malvidina e a peonidina. Essas antocianinas diferem entre si quanto ao número de hidroxilas e grau de metilação (Francis, 1989) presentes no anel B (Figura 1).

Antocianidinas são raramente encontradas em plantas, ocorrendo normalmente glicosiladas com açúcares, que estabilizam a molécula (Francis, 2000).

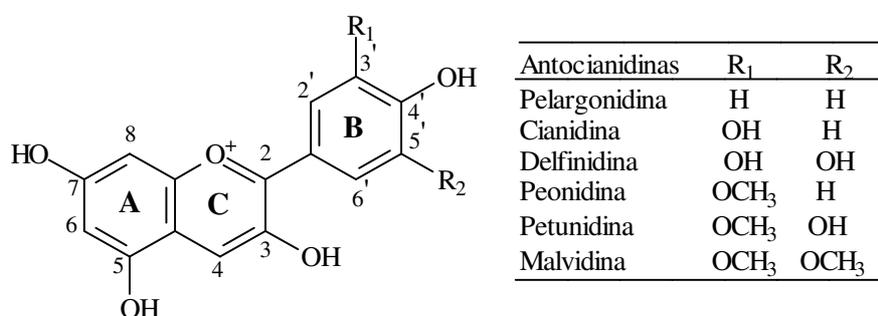


FIGURA 1 Estrutura das seis antocianinas mais comuns.

O crescente interesse pela utilização de pigmentos naturais na alimentação em substituição aos artificiais, que podem produzir, entre outros problemas, reações alérgicas, leva a variados métodos de extração desses pigmentos. A técnica, bem como a escolha do solvente a ser utilizado na extração de antocianinas, torna-se extremamente importante em sua quantificação. Segundo Francis (1989), vários fatores influenciam a estabilidade das antocianinas, como a estrutura química, o pH, a temperatura, a luz, a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações entre os outros componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares

e co-pigmentos. O pH influencia a cor das antocianinas e a sua estabilidade, assim como o grau de metilação, número de hidroxilas ligadas à estrutura e o nível de glicosilação, uma vez que as moléculas diglicosiladas são mais estáveis que as monoglicosiladas (Lima & Guerra, 2003).

Na literatura científica, são encontrados vários métodos de extração dos pigmentos, com diferentes solventes, tanto para determinações colorimétricas quanto cromatográficas, de quantificação das antocianinas e de realização de testes antioxidantes. Os vegetais vermelhos são extraídos em solventes sempre acrescidos de um ácido para manter o pH inferior a 2 (Lees & Francis, 1972).

As antocianinas são muito solúveis em solventes polares, sendo facilmente extraídas com água, metanol e etanol. Geralmente a extração é realizada em meio ácido, para prevenir a oxidação desses pigmentos (Lee & Hong, 1992).

A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* dos extratos torna-se um subsídio cada vez mais relevante nas áreas de nutrição e tecnologia de alimentos. Em vez de determinar individualmente a concentração de cada antioxidante, a avaliação da capacidade antioxidante total, adotando-se diferentes métodos, revela-se cada vez mais importante. A atividade antioxidante é uma medida da capacidade das substâncias extraídas da matriz de alimentos e plantas de sequestrar radicais livres (teste ABTS e fosfomolibdênio) ou de retardar o processo de oxidação lipídica em um sistema controlado (sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico). O termo antioxidante é utilizado para referir a ambas as atividades: o efeito antirradical (sequestro de radicais livres) e a ação antioxidante (na prevenção ou retardo da oxidação lipídica), assim como outras.

O objetivo, neste trabalho, foi avaliar diferentes solventes e técnicas de extração, mais comumente citados na literatura, para a determinação de antocianinas totais, estabilidade dos pigmentos, identificação e quantificação das antocianinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), assim como a

realização de testes antioxidantes no fruto inteiro e nas frações de duas variedades de jabuticaba, Paulista e Sabará, pertencentes à espécie *Myrciaria cauliflora* Berg.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras

Jaboticabas maduras de duas variedades, Paulista e Sabará, foram colhidas pela manhã, na fazenda São José do Imeril, município de Coqueiral, MG. Foram selecionadas, lavadas, sanificadas com hipoclorito de sódio (200 mg L<sup>-1</sup>) por imersão de 10 minutos, pesadas e separadas em fruto inteiro e em frações (casca, polpa e semente) e cada uma dessas partes foram pesadas e separadas para se obter três repetições. A parte destinada à análise de frutos inteiros foi triturada em liquidificador por 2 minutos, congelada em porções de peso conhecido e liofilizadas até peso constante. Os frutos foram esmagados sobre uma peneira grossa, separando-se as cascas, sementes e polpa, que foram embaladas, pesadas, congeladas e liofilizadas até peso constante.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2, sendo 4 as frações: fruto inteiro, casca, polpa e semente e 2 variedades de jaboticabas com 3 repetições. A análise estatística foi feita empregando-se o programa SISVAR (Ferreira, 2003), sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Para os dados de estabilidade das antocianinas e os resultados dos testes antioxidantes para teores de polifenóis, antocianinas e vitamina C, foi realizada uma análise de correlação e regressão.

### 4.2 Extração e dosagem dos pigmentos antociânicos

Para as extrações de antocianinas, inicialmente foram usados 1 g de casca e 25 mL de solvente, em triplicata, ao abrigo da luz, e as leituras da absorbância dos filtrados foram feitas em 535 nm, em espectrofotômetro Micronal B 382. Foram testadas diferentes metodologias de extração:

1) por agitação a 50°C em solução aquosa de HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>, nos tempos de 15, 30 e 60 min. e 4 reextrações consecutivas de mesmo tempo Jing & Giusti (2007), com modificações. Os extratos foram filtrados em papel Whatman nº 1 e funil de Buchner, sob pressão e o resíduo raspado e levado novamente à nova agitação com outros 25 mL do mesmo solvente. A cada extração, foi feita leitura da absorbância do filtrado.

2) maceração por 12 h, a 4°C, com água acidificada, nas proporções de 85% de solvente (água) para 15% de HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup>, após agitação por 2 min. em politron, ao abrigo da luz (metodologia desenvolvida por Lees & Francis (1972), com algumas modificações). A solução foi filtrada em papel Whatman nº 1 e funil de Buchner sob pressão e o resíduo lavado com o mesmo solvente até se obter um volume de 200 mL. Desses, 2 mL foram transferidos para outro balão de 100 mL protegido da luz e o volume completado com o solvente extrator. O pH deve estar em 1,0 ± 0,1 e, após 2 h em temperatura ambiente, a absorbância foi medida.

3) maceração por 12 h, a 4°C, em solução aquosa de HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup> e 2 reextrações de 15 min. em temperatura ambiente sob agitação, com filtração. Os filtrados foram reunidos em um balão de 200 mL, homogeneizados e uma alíquota de 2 mL foi retirada e colocada em balão de 100 mL e o volume completado com o solvente. Após 2 h em temperatura ambiente a absorbância foi medida.

Empregou-se o mesmo princípio utilizado por Lees & Francis (1972) para os cálculos das concentrações de antocianinas nas metodologias citadas acima, levando em conta o fator de diluição e o coeficiente de extinção da cianidina-3-galactosídeo (98,2), para antocianinas totais, em que 98,2 corresponde à média de uma mistura de antocianinas purificadas, a partir do suco de “cranberry”, obtidas por Fuleki & Francis (1968). Segundo os autores, o uso do mesmo coeficiente de absorção nos cálculos de antocianinas totais causa

um erro muito pequeno, além de que os coeficientes de absorção de todas as antocianinas nem sempre são conhecidos ou determinados.

Os cálculos foram feitos de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Antocianinas totais (mg cianidina g}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Absorbância} \times \text{fator de diluição}}{98,2}$$

Estabelecida a melhor metodologia de extração (subitem 4.1, resultados e discussão), foram avaliados os volumes do extrator de 15 e 25 mL, nas condições da metodologia (2) descrita. Determinado o volume de extrator mais adequado (subitem 4.1, resultados e discussão), avaliaram-se em seguida outros solventes: etanol 95% P.A., solução aquosa de etanol 50%, de metanol 50% e de acetona 30%, nas condições da metodologia (2).

#### **4.3 Determinação de antocianinas totais**

Escolhido o melhor solvente (subitem 4.1, resultados e discussão), essa metodologia foi empregada para a extração e dosagem de antocianinas nas cascas, polpas, sementes e fruto inteiro das duas variedades de jabuticaba.

A média das absorbâncias encontrada em cada extração foi multiplicada pelo fator de diluição e o resultado dividido por 98,2, como na equação acima.

#### **4.4 Estabilidade das antocianinas**

Extratos de cascas das duas variedades de jabuticaba estudadas, obtidas pela extração com etanol 50% acidificado com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup> (85:15), na proporção de 1:15 (1 g de amostra:15 mL de solvente) em triplicata, foram submetidos à leitura espectrofotométrica a 535 nm (Lees & Francis, 1972). Os extratos foram distribuídos em tubos de ensaio (20 mL), vedados com parafilme, para evitar a evaporação do solvente, bem como a oxidação dos pigmentos pelo oxigênio do ar. Metade dos tubos foi recoberta com folhas de alumínio para evitar a exposição à luz. Todos os tubos foram mantidos à temperatura ambiente (22 ± 3 °C) e a uma distância de 1,32 m de 2 lâmpadas fluorescentes de 40 W.

Inicialmente as leituras foram realizadas a 535 nm a cada 48 h, e posteriormente, o intervalo de leitura aumentado até 185 dias, com um total de 11 leituras. As leituras foram feitas para avaliação da estabilidade dos pigmentos, na presença e ausência de luz, sendo os teores de antocianinas calculados segundo a fórmula citada no subitem 2.2.

#### **4.5 Análise de antocianinas por CLAE**

As extrações das antocianinas das cascas, polpas e sementes das duas variedades de jabuticaba foram feitas com etanol 95% acidificado com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup> (85:15), na proporção de 1:15 (1 g de amostra:15 mL de solvente). Os extratos foram concentrados por meio de evaporador rotativo a 38°C e pressão reduzida, para eliminação do solvente.

Vários autores relatam a necessidade de uma purificação dos extratos, antes da análise por CLAE, para eliminação de possíveis compostos interferentes (substâncias polares e não fenólicas), sendo o método mais utilizado a extração em fase sólida (SPE- Solid Phase Extraction) (Wilkinson et al., 1977; Giusti et al., 1998; Heredia et al., 1998; Pazmino-Duran et al., 2001), devido à relativa simplicidade de uso. Assim, foram realizadas análises cromatográficas com as amostras purificadas e não purificadas em cartuchos SPE C18, Supelclean Envi-18 da Supelco de 100 mg, para comparação dos resultados. O cartucho foi condicionado com metanol acidificado com HCl 1 mol L<sup>-1</sup> ( Hong & Wrolstad, 1990) seguido de água Milli Q e, em seguida, as amostras foram percoladas pelo cartucho com metanol acidificado. Os extratos purificados e não purificados foram filtrados em membranas de 0,45µm (Millipore), antes da injeção no cromatógrafo.

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência HP (Hewlett-Packard) série 1100, com desgaseificador, sistema de bombas quaternárias, injetor automático, sem controle da

temperatura, detector espectrofotométrico com arranjo de diodos e programa Chemstation, para obtenção e tratamento dos dados. Para a separação das antocianinas, empregou-se uma coluna C18- Nucleosil 120-5, marca Macherey-Nagel, 250 x 4,6 mm e 5 µm e pré-coluna Supelco Spherisorb ODS de 1 cm x 4,6 mm ID x 5 µm. Como fase móvel foi utilizada acetonitrila (A) e solução 9% de ácido acético em água Milli Q (B), ambos de grau HPLC. O programa utilizado para a separação das antocianinas consistiu de um gradiente linear variando a composição da fase móvel de 0 a 30% do solvente A em 30 min. Fluxo de 1 mL min.<sup>-1</sup> e injeção de 20 µL (Prata, 2005).

Os cromatogramas foram monitorados simultaneamente a 280, 310, 440 e 520 nm, comparados e quantificados através de curva analítica de cianidina 3-glicosídeo, delphinidina 3-glicosídeo, peonidina 3-glicosídeo, petunidina 3-glicosídeo e malvidina 3-glicosídeo, gentilmente cedidos por INRA-ECAN, UMR-Oenologie-Ampelologie, Villenave Dorrnon, França.

Foram feitos cromatogramas de extratos de 100 g de uva Red Globe e morango, por se tratar de frutas de constituição conhecida, contendo derivados de delphinidina, cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e malvidina (Prata, 2005).

## **4.6 Avaliação da atividade antioxidante**

### **4.6.1 Método ABTS**

O método ABTS é amplamente usado para materiais biológicos e extratos de plantas de natureza hidrofílica e lipofílica. O método utiliza, para testar a atividade antioxidante, o ensaio da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox<sup>®</sup> e também da vitamina C. O Trolox<sup>®</sup> (2-ácido carboxílico 6-hidroxi, 2,5,7,8-tetrametilcromo) é um análogo hidrossolúvel da vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol).

O composto cromógeno ABTS é formado pela adição de 5 mL de solução estoque de ABTS  $7 \text{ mmol L}^{-1}$ , com 88  $\mu\text{L}$  de solução de persulfato de potássio  $140 \text{ mmol L}^{-1}$ , mantidos no escuro, à temperatura ambiente por 16 h. O radical formado é diluído em álcool etílico 50% até obter uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  a 734 nm e deve ser usada em até 4 h. De tempos em tempos, a absorbância do radical diluído deve ser medida para sua correção, a qual que cai rapidamente, evitando-se, assim, erro na determinação da atividade antioxidante.

A metodologia utilizada foi descrita por Re et al. (1999), com algumas adaptações feitas nos laboratórios da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA (2007) para determinações da atividade antioxidante total em frutas.

Foram feitas extrações segundo a metodologia de Lees & Francis (1972), utilizando-se etanol 50% acidificado com HCl  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  (85:15) como solvente extrator, na proporção de 1:15, que foi anteriormente testado e avaliado como a melhor forma de extração. Para as sementes, foram utilizados 1 g de amostra liofilizada com lavagem do resíduo até completar 50 mL ( $20 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Para as cascas e frutos inteiros, que contêm mais pigmentos, a lavagem dos resíduos foi feita até completar 100 mL ( $10 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e, para as polpas, que contêm pouco pigmento, a extração foi feita com 2 g de amostra e lavagem até completar 50 mL ( $40 \text{ mg mL}^{-1}$ ). A partir dos extratos obtidos, foram feitas 4 diluições diferentes para os ensaios e posterior construção de curva analítica.

Em ambiente escuro, 3,0 mL do radical ABTS<sup>•+</sup> foi colocado em um tubo de ensaio com uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada diluição de extratos, homogêneos em agitador e fez-se a leitura (734 nm) após 6 minutos de reação, utilizando álcool etílico 50%, na calibração do espectrofotômetro.

O valor de ABTS foi determinado pela comparação da capacidade de degradação de um antioxidante em relação ao Trolox e à vitamina C. É definido como a concentração do antioxidante, que fornece a mesma porcentagem de

inibição do Trolox  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  (Re et al., 1999) e em relação à vitamina C ou ácido ascórbico.

Foi feita uma curva de calibração de 6 pontos com ácido ascórbico ( $10$  a  $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) e uma com Trolox ( $100$  a  $2.000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ), além de testes para comparação com rutina e quercetina, que são flavonoides de comprovada atividade antioxidante.

Os cálculos foram feitos a partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições (4 concentrações) dos extratos, plotando um gráfico para cada amostra, com absorvância no eixo do Y e a concentração correspondente a cada diluição ( $\text{mg L}^{-1}$ ) no eixo do X, determinando-se a equação da reta. Substituiu-se, então, nessa equação, a absorvância equivalente a  $1.000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  do padrão Trolox, encontrando-se assim (x) a concentração da amostra ( $\text{mg L}^{-1}$ ) equivalente a  $1.000 \text{ } \mu\text{mol}$  de Trolox  $\text{L}^{-1}$ . O resultado final foi calculado pela divisão de  $1.000$  ( $\mu\text{mol}$ ) pelo valor de x (g) e multiplicado por  $1$  (g), que foi expresso em  $\text{mmol L}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

Para a vitamina C, o cálculo foi feito substituindo-se o valor da absorvância de  $1.000 \text{ } \mu\text{mol}$  pela absorvância correspondente a  $100 \text{ mg}$  na curva de ácido ascórbico, cujo resultado foi expresso em  $\text{mg g}^{-1}$ .

#### **4.6.2 Método fosfomolibdênio**

O método do fosfomolibdênio é baseado na redução do molibdênio (VI) ao molibdênio (V) pela amostra com capacidade antioxidante com formação de um complexo de fosfomolibdênio (V), em pH ácido, de coloração esverdeada, com absorção máxima de  $695 \text{ nm}$  (Prieto et al., 1999). A solução teste inicial possui coloração amarela, tornando-se verde à medida que o complexo fosfomolibdênio é formado ou o molibdênio se reduz.

Os extratos etanólicos das frações das duas variedades de jabuticaba utilizados no teste foram os mesmos do teste ABTS. Foram analisadas duas

concentrações de cada extratos: polpa e semente, 4 mg mL<sup>-1</sup> e 20 mg mL<sup>-1</sup> e cascas e fruto inteiro, 1mg mL<sup>-1</sup> e 2 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Das duas concentrações, a que apresentou melhor resultado frente à curva de calibração de ácido ascórbico foi utilizada para os cálculos de atividade antioxidante.

A uma alíquota de 0,3 mL das amostras diluídas foi acrescentada 2,7 mL do reativo fosfomolibdico (molibdato de amônio 4 mmol L<sup>-1</sup>, fosfato sódico monobásico 28 mmol L<sup>-1</sup>, ácido sulfúrico 0,6 mol L<sup>-1</sup>). Um branco foi constituído de 0,3 mL de etanol 50% (solvente extrator) e 2,7 mL do reativo. Os tubos foram fechados e levados ao banho-maria a 95°C por 90 min., resfriados e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV a 695nm.

Para a avaliação da atividade antioxidante, foi feita uma curva analítica com o ácido ascórbico (10 a 200 mg L<sup>-1</sup>) e, pelas respectivas leituras de absorbância, uma equação do tipo  $y = ax + b$ , foi estabelecida e a atividade redutora equivalente ao ácido ascórbico, substância de reconhecido poder antioxidante, foi calculada. Ao  $y$  foi atribuído o valor de absorbância encontrado na amostra e dessa forma, calculou-se o equivalente de ácido ascórbico correspondente, levando-se em consideração a concentração de amostra usada no teste.

#### **4.6.3 Método $\beta$ -caroteno/ácido linoleico**

O sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico é constituído por uma emulsão (sistema aquoso-lipídico), no qual a capacidade antioxidante é avaliada pela capacidade do extrato analisado de inibir o processo de oxidação no sistema, em um total de 2 horas. Consiste da descoloração (oxidação) do  $\beta$ -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoleico e estima a habilidade relativa de compostos antioxidantes presentes em extratos de plantas, de sequestrar o radical peróxido do ácido linoleico (LOO<sup>•</sup>), que oxida o  $\beta$ -caroteno presente na emulsão (Borguini, 2006).

Os extratos das frações das duas variedades de jabuticaba utilizados no teste foram os mesmos do teste ABTS, sendo feitas 3 diluições diferentes para cada amostra.

Para o preparo da emulsão utilizaram-se 2 mL de  $\beta$ -caroteno diluído em clorofórmio ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), ao qual se adicionaram 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de tween 20 (emulsificante). Em balão recoberto com alumínio para proteção contra a luz, o clorofórmio foi evaporado sob atmosfera de nitrogênio e 100 mL de água saturada de oxigênio (água destilada tratada com oxigênio por 30 min.) foram acrescentados e agitados vigorosamente até que a emulsão se tornasse límpida. Em tubos de ensaio, 4,8 mL dessa emulsão foram adicionados a 0,2 mL de cada diluição da amostra (extrato etanólico) empregado para o teste. Um tubo controle contendo 4,8 mL da emulsão e 0,2 mL de etanol a 50%, e um branco-amostra (4,8 mL de água e 0,2 mL de amostra diluída) foram feitos juntamente com as amostras. Após homogeneização, foi feita leitura em espectrofotômetro a 470 nm, sendo essa a leitura do tempo zero (inicial). Os tubos foram então colocados em banho-maria a  $50^{\circ}\text{C}$  e leituras sequenciais foram feitas a cada 20 minutos, por um período total de 2 horas. O Trolox e a quercetina foram usados para comparação.

Foi avaliada a razão de degradação (Rd) para o controle e para cada amostra ou padrão, usando-se a seguinte fórmula (Suja et al., 2005):

$$\text{Rd}_{\text{amostra}} = \ln \frac{A(0)}{A(t)} \times \frac{1}{t} \qquad \text{Rd}_{\text{controle}} = \ln \frac{A(0)}{A(t)} \times \frac{1}{t}$$

Em que  $\ln$  é o log natural,  $A(0)$  = Absorbância inicial da amostra, controle ou padrão, no tempo 0,  $A(t)$  = a absorbância no tempo (t), em que o extrato não protege mais a amostra, a 470nm.

Correlacionou-se a queda na leitura da absorbância das amostras com o controle e estabeleceu-se a porcentagem de inibição da oxidação lipídica a partir do substrato, segundo a fórmula abaixo:

$$\% \text{ AA} = (\text{Rd controle} - \text{Rd amostra}) / \text{Rd controle} \times 100$$

Em que Rd controle e Rd amostra representam a taxa de descoramento do  $\beta$ -caroteno sem e com a adição de antioxidante, respectivamente.

$\% \text{ AA}$  = porcentagem da atividade antioxidante (inibição da oxidação).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Rendimento da extração dos pigmentos antociânicos

Poucos compostos absorvem energia na região de absorção máxima das antocianinas (465 a 550 nm). Dessa forma, a quantificação é realizada por métodos espectrofotométricos baseados em medição simples de absorbância, em comprimento de onda adequado, levando-se em conta o coeficiente de absorção molar  $\epsilon$  (a absorção de uma solução contendo  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ).

Os resultados das extrações com a solução aquosa de HCl  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  por agitação em diferentes tempos são mostrados na Figura 2.

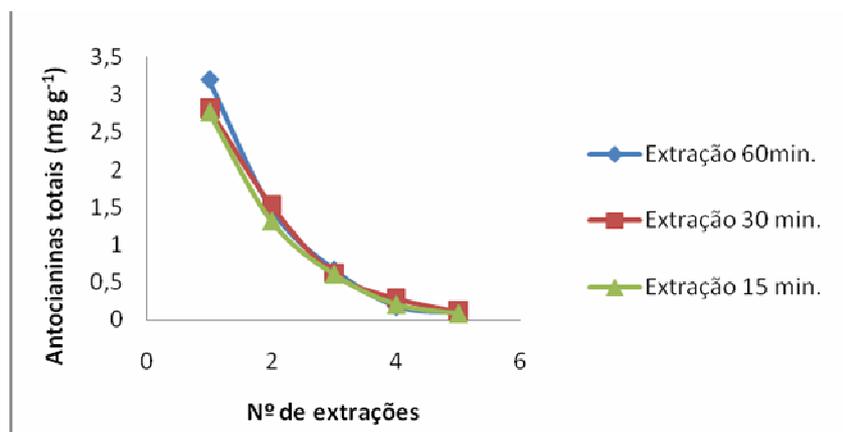


FIGURA 2 Antocianinas em cascas de jabuticaba, com várias extrações com solução aquosa de HCl  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , por agitação em diferentes tempos a  $50^\circ\text{C}$ .

Observa-se que, a partir da 3<sup>a</sup> extração, a quantidade de antocianinas totais extraídas é baixa, representando de 4,9 a 7,4% do total extraído, sendo que na 1<sup>a</sup> foram extraídos de 53 a 57% dos pigmentos totais. Os teores de antocianinas totais das cinco extrações reunidas na metodologia por agitação foram de  $5,61 \pm 0,01$ ;  $5,37 \pm 0,11$  e  $4,99 \pm 0,04$  mg g<sup>-1</sup> para os tempos de 60 min, 30 min. e 15 min., respectivamente .

Para as extrações com maceração em água acidificada com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup> e 0,01 mol L<sup>-1</sup>, foram encontrados  $9,78 \pm 0,1$  e  $8,40 \pm 0,26$  mg g<sup>-1</sup> de antocianinas totais, respectivamente. Comparando esses resultados, verifica-se que a maceração por 12 h a 4°C, com água destilada acidificada com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup>, apresentou um maior rendimento de extração.

Dos dois volumes empregados para a extração, 15 mL extraiu  $10,29 \pm 0,27$  mg 100 g<sup>-1</sup> e 25 mL  $9,78 \pm 0,1$  mg 100 g<sup>-1</sup> de antocianinas totais. Portanto, o volume de 15 mL acarretou aproximadamente 5% a mais de extratibilidade.

Segundo Markakis (1982), o pH exerce profunda influência na cor e na estabilidade das antocianinas, sendo mais estáveis em soluções mais ácidas e podem rapidamente ser destruídas por aquecimento. Estudos demonstraram relação logarítmica entre a destruição das antocianinas e o aumento aritmético da temperatura, sendo mais recomendado usar baixo tempo em altas temperaturas do que tempos prolongados em temperaturas médias, para melhor retenção dos pigmentos. Testes realizado por Mazza (1995) mostraram que o total de antocianinas extraídas de suco de uva, que foram de 460 mg 100 g<sup>-1</sup> a frio, diminuiu para 200 mg 100 g<sup>-1</sup>, quando a extração ocorreu a quente.

Em relação aos outros solventes testados (Figura 3), verificou-se que o etanol 50% e 95% foram os que acarretaram maior extratibilidade das antocianinas, seguidos pelo metanol 50% e acetona 30%. A extração com água acarretou a menor extratibilidade das antocianinas. Constata-se que apesar de as

antocianinas serem solúveis em água, os solventes menos polares removeram maiores quantidades de pigmentos da amostra.

Diferentemente do apontado por Meltivier et al. (1980), que obtiveram teores 20% maiores de antocianinas extraídas em bagaço de uva com metanol, neste trabalho a extração com etanol 50% proporcionou 17,83% de antocianinas totais acima da extração com metanol 50% acidificado.

Segundo Garcia-Viguera et al. (1998), a utilização de acetona em comparação com a técnica que emprega metanol acidificado permite uma extração mais eficiente e reprodutível e evita problemas com pectina, além de permitir o uso de temperaturas mais baixas para a concentração da amostra. Todavia, o etanol, além de ser um solvente menos tóxico, é mais barato e obteve melhores resultados de extração, no presente trabalho.

A utilização de solventes acidificados com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup> em jabuticaba propicia um pH entre 1 e 1,5. Os autores Lees & Francis (1972) afirmam ser importante que se faça a correção do pH para  $1,0 \pm 0,1$ , na extração desses pigmentos, para uma maior estabilidade.

Em pH baixo, as antocianinas estão predominantemente na forma de cátion flavílio, de coloração vermelha em solução aquosa. O uso de solventes contendo mais que 1% de HCl pode promover uma hidrólise parcial das antocianinas aciladas e uma quantificação incorreta das antocianinas totais (Revilla et al., 1998).

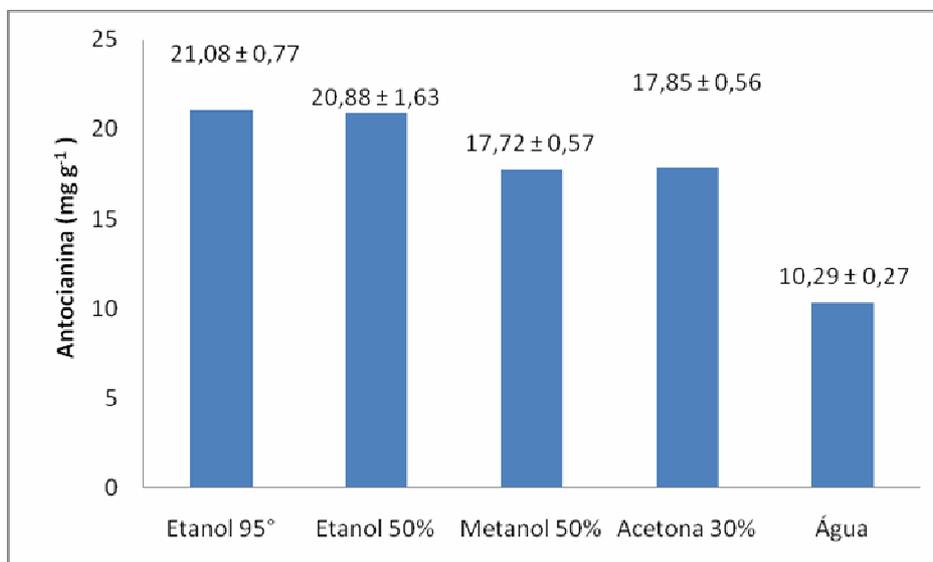


FIGURA 3 Antocianinas totais em cascas de jaboticaba, extraídas por maceração em diferentes solventes acidificados com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup>.

## 5.2 Estabilidade dos pigmentos

A estabilidade dos pigmentos das cascas de jaboticabas foi avaliada quanto à presença ou não de luz e tempo de estocagem. Até o final do experimento (185 dias), as amostras mantiveram-se límpidas, sem presença de fungos ou precipitados.

Pode-se observar na Figura 4 que a perda de antocianinas totais no decorrer de 185 dias (mais de 6 meses) foi de ± 23% e que o fator luz não afeta significativamente a degradação das antocianinas.

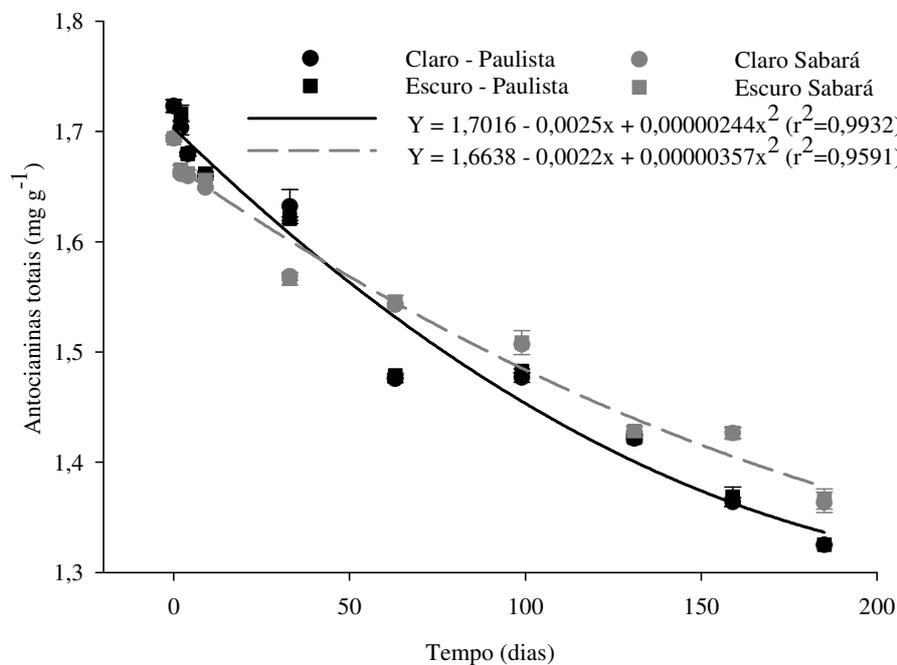


FIGURA 4 Antocianinas das cascas de duas variedades de jabuticaba, armazenadas à temperatura ambiente, na presença e ausência de luz. Foi realizada análise de regressão pelo modelo quadrático, empregando o Software Sigma Plot.

Terci (2004), estudando a estabilidade de pigmentos de frutas em função de pH, temperatura e tempo de armazenamento, concluiu que apenas o pH afeta significativamente a degradação das antocianinas, o que também foi verificado por Cabrita et al. (2000) e Abdel-Aal & Hucl (2003).

Em solução aquosa, segundo Brouillard & Dubois (1977), podem existir quatro formas estruturais de antocianinas em equilíbrio (Figura 5): o cátion flavílio (AH<sup>+</sup>), a base quinoidal (A), a pseudobase ou carbinol (B) e a chalcona (C). Em condições ácidas (pH inferior a 2), a antocianina existe primariamente

na forma de cátion flavílio ( $AH^+$ ) de cor vermelha. Elevando-se o pH, ocorre a rápida perda do próton para produzir as formas quinoidais (A), azuis ou violetas.

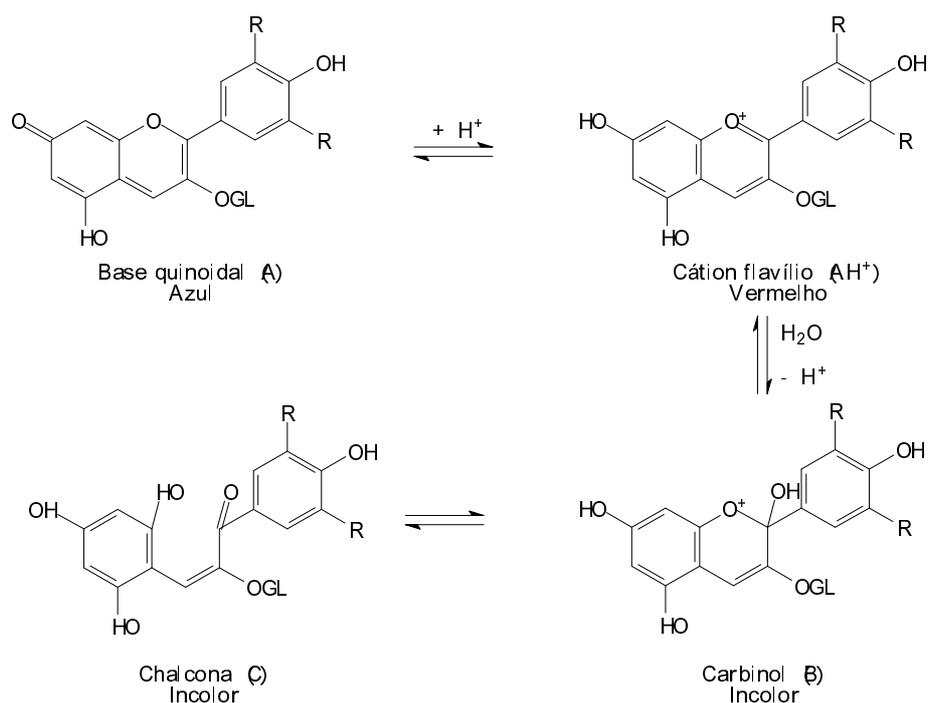


FIGURA 5 Formas estruturais de antocianinas em equilíbrio em solução aquosa. Fonte: Malacrida & Motta (2006).

Em paralelo ocorre a hidratação do cátion flavílio ( $AH^+$ ), gerando a pseudobase incolor ou carbinol (B), que atinge o equilíbrio lentamente com a chalcona incolor (C). As quantidades relativas de cátion ( $AH^+$ ), formas quinoidais (A), pseudobase (B) e chalcona (C), na condição de equilíbrio variam, conforme o pH e a estrutura da antocianina (Iacobucci & Sweeny, 1983).

O grau de hidroxilação exerce importante efeito na estabilidade das antocianinas; aquelas que contêm mais grupos hidroxilas em sua estrutura são menos estáveis. Inversamente, alto grau de metoxilação aumenta a estabilidade das antocianinas (Francis, 1989). Segundo Malacrida & Motta (2006), as antocianinas substituídas no grupo hidroxílico do C-5 são mais susceptíveis à decomposição fotoquímica do que as não substituídas nessa posição. Nas cascas das variedades de jabuticaba estudadas, encontram-se 2 antocianinas. A cianidina (majoritária) apresenta uma hidroxila na posição 3' ( $R_1$ ) e a delphinidina apresenta uma hidroxila na posição 3' e outra na posição 5', não sendo nenhuma das duas metoxiladas (Figura 1).

O aumento no número de hidroxilas fenólicas muda a coloração das antocianinas de rosa para azul, e a presença de grupos metoxila no lugar de hidroxilas reverte a tendência anterior (Mazza & Brouillard, 1987). As antocianidinas são menos estáveis do que as antocianinas. A cianidina-3-glicosídeo, por exemplo, apresenta tempo de meia-vida em solução de ácido cítrico  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,8) de 65 dias, ao passo que sua aglicona livre alcança apenas 12 horas nas mesmas condições (Iacobucci & Sweeny, 1983).

As antocianinas são rapidamente degradadas pelo calor. O oxigênio pode causar degradação das antocianinas por mecanismos de oxidação direta e indireta, quando constituintes oxidados do meio reagem com as antocianinas. Também sofrem degradação por enzimas e açúcares, sofrem interações com íons metálicos polivalentes e formam complexos com numerosos compostos, como proteínas, taninos, outros flavonoides, ácidos orgânicos, ácidos nucleicos, alcaloides e polissacarídeos por meio de copigmentação intermolecular (Malacrida & Mota, 2006).

Em vista dos resultados apresentados, pode-se concluir que a extração dos pigmentos com etanol 50% acidificado com HCl  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 1,0) manteve a estabilidade dos pigmentos por um tempo maior, quando comparado

com outros experimentos que utilizaram outros ácidos mais fracos, como o ácido cítrico  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,8) (Iacobucci & Sweeny, 1983).

### 5.3 Determinação de antocianinas totais

Os teores de antocianinas totais no fruto inteiro e suas frações, de duas variedades de jabuticaba, são mostrados na Tabela 1.

TABELA 1 Antocianinas totais no fruto inteiro e suas frações de duas variedades de jabuticaba, em  $\text{mg g}^{-1}\text{MS}$

<b>Amostra</b>	<b>Paulista</b>	<b>Sabará</b>
Casca	$15,85 \pm 0,74 \text{ c A}$	$20,57 \pm 0,66 \text{ c B}$
Polpa	$0,09 \pm 0,00 \text{ a A}$	$0,10 \pm 0,02 \text{ a A}$
Semente	$0,35 \pm 0,02 \text{ a A}$	$0,31 \pm 0,02 \text{ a A}$
Fruto inteiro	$5,83 \pm 0,68 \text{ b A}$	$8,37 \pm 0,72 \text{ b B}$
CV (%)	7,75	

Letras minúsculas na coluna comparam entre as fraes e letras maiúsculas na linha comparam-nas entre as variedades. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ). Teor de umidade das amostras: capítulo 2, item 3.

Os teores de antocianinas totais nas cascas foram bastante elevados, sendo 22,95 % superior na variedade Sabará. As fraes polpas e sementes apresentaram teores relativamente baixos em antocianinas, enquanto os frutos inteiros apresentaram um teor intermediário ao das fraes.

Bobbio et al. (2000) analisando o fruto do açazeiro extraído e quantificado pelo mesmo método descrito por Lees & Francis (1972) e utilizado neste trabalho, encontraram  $263 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  de antocianinas na casca do fruto fresco. Lima et al. (2005), utilizando essa mesma metodologia, encontraram 16,2

mg 100 g<sup>-1</sup> de antocianinas totais em pitanga roxa (matéria fresca) e, para a uva, os teores foram de 30,9 mg 100 g<sup>-1</sup> (matéria fresca) utilizando-se o método de diferença de pH apresentados por Kuskoski et al. (2005). Também Zanatta et al. (2005), usando o método de extração por maceração de Lee & Francis (1972), em casca de camu-camu fresco, fruta da mesma família da jabuticaba, encontraram 54,0 mg 100 g<sup>-1</sup> de antocianinas totais. Transformando os teores de antocianinas nas cascas de jabuticaba, de matéria seca para fresca, têm-se 383,0 mg 100 g<sup>-1</sup> de antocianinas totais para a Paulista e 362,0 mg 100 g<sup>-1</sup> para a Sabará. Portanto, a jabuticaba apresentou os teores mais elevados, podendo, assim, ser considerada muito rica em antocianinas.

#### **5.4 Identificação e quantificação das antocianinas por CLAE**

Foram encontradas 2 antocianinas, cianidina 3-glicosídeo e delphinidina 3-glicosídeo, na casca das duas variedades de jabuticaba e cianidina 3-glicosídeo em pequena quantidade na polpa, confirmadas por comparação dos tempos de retenção de padrões analíticos a 520 nm. Não foi detectada a presença de antocianinas nas sementes das variedades estudadas.

Os teores desses pigmentos entre as variedades são bastante parecidos, não apresentando diferença, quando comparados dentro da mesma fração, como mostrado na Tabela 2.

Os resultados de antocianinas totais apontaram uma superioridade das cascas da variedade Sabará de aproximadamente 29,0% sobre a variedade Paulista. Já com a análise cromatográfica, essa diferença não ocorre.

Comparando-se os dois métodos de quantificação de antocianinas, os teores encontrados na cromatografia foram mais elevados que o colorimétrico, devendo ser levada em consideração a maior especificidade da análise cromatográfica. Obtiveram-se 15,85 mg g<sup>-1</sup> de antocianinas totais nas cascas da variedade Paulista (Tabela 1) e a soma das 2 antocianinas por CLAE foi de

31,22 mg g<sup>-1</sup> (sem SPE). Na variedade Sabará, os teores foram de 20,57 mg g<sup>-1</sup> no método colorimétrico e de 31,24 mg g<sup>-1</sup>, somando-se as duas antocianinas das análises cromatográficas.

Já as polpas apresentaram 0,09 e 0,16 mg g<sup>-1</sup> para a Paulista e para a Sabará 0,10 e 0,07 mg g<sup>-1</sup> de antocianinas determinadas colorimétrica e cromatograficamente, respectivamente.

TABELA 2 Quantificação das antocianinas na casca e polpa de duas variedades de jaboticaba por CLAE a 520 nm.

Variedade	Com SPE* (mg g <sup>-1</sup> )		Sem SPE (mg g <sup>-1</sup> )	
	Cianidina 3-glicosídeo	Delfinidina 3-glicosídeo	Cianidina 3-glicosídeo	Delfinidina 3-glicosídeo
<b>Paulista</b>				
Casca	25,82 ± 1,14	3,09 ± 0,26	27,55 ± 5,72	3,67 ± 0,86
Polpa	0,18 ± 0,04	0,00 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,03 ± 0,01
<b>Sabará</b>				
Casca	25,98 ± 2,78	2,71 ± 0,29	27,94 ± 3,73	3,30 ± 0,65
Polpa	0,07 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,01	Traços

Os dados são a média de 3 repetições ± desvio-padrão. \*SPE = Cartucho de purificação dos extratos (extração em fase sólida).

Teor de umidade das amostras: capítulo 2, item 3.

O fato de os picos encontrarem-se em diferentes proporções nos cromatogramas foi devido à diluição dos extratos que, nas cascas, foi na proporção de 1:3 para a análise cromatográfica, após a purificação em SPE, e nas amostras não purificadas, a diluição foi 1:10.

O uso de cartuchos (SPE) para a purificação dos extratos pareceu desnecessário com o uso da metodologia adotada, uma vez que os

cromatogramas apresentaram-se muito parecidos (com e sem SPE), não aparecendo nenhum interferente na corrida feita com as amostras sem o uso do cartucho (Figura 6). Os valores ligeiramente menores das antocianinas, encontrados com a purificação SPE, pode ter ocorrido pelo fato de parte dos pigmentos ter ficado adsorvido ao cartucho, hipótese que é reforçada pelo aparecimento de pequena quantidade de delphinidina em polpas, nas duas variedades, o que não ocorreu quando se usaram os cartuchos de purificação.

É citado por Terci (2004) a existência de uma terceira antocianina, peonidina 3-glicosídeo, em menor quantidade que a delphinidina, em extratos etanólicos de cascas de jabuticaba Sabará, que não foi detectada aqui. Já Einbond et al. (2004) encontraram apenas cianidina 3-glicosídeo, em extratos metanólicos de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), confirmada com análise de RMN e CL-MS. Os trabalhos citados não apresentaram quantificação das antocianinas.

A cianidina é uma antocianina comum em frutos, principalmente os vermelhos. A uva variedade Red Globe é uma fruta rica em antocianinas, e apresenta 5 das 6 antocianinas presentes na natureza. Das polpas de uva Red globe e morango analisadas paralelamente com as amostras de jabuticaba por CLAE, foram detectados 5 picos que, de acordo com os tempos de retenção dos padrões, são delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina (pico majoritário) e malvidina, todos apresentando a glicose na posição 3. No morango, foram detectados 3 picos, sendo apenas 1 identificado com os padrões: cianidina 3-glicosídeo. Segundo Prata (2005), os outros dois são pelargonidina 3-glicosídeo (pico majoritário) e pelargonidina 3-rutinosídeo. As análises de frutas com antocianinas já identificadas ajudam na confirmação das análises cromatográficas, mesmo dispondo-se de padrões. Apesar de a jabuticaba conter apenas duas antocianinas, elas são consideradas de grande poder antioxidante,

devido à estrutura que apresentam, com duas hidroxilas (cianidina) e três hidroxilas (delfinidina), presentes no anel B.

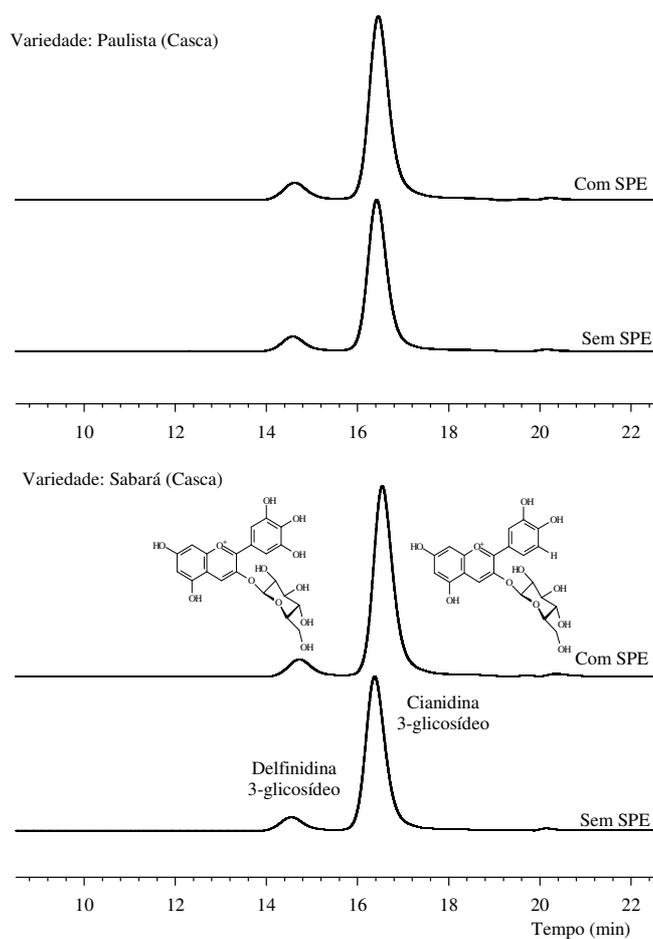


FIGURA 6 Cromatogramas da análise do extrato etanólico da casca de duas variedades de jaboticaba, com e sem cartucho de purificação com extração em fase sólida. Com SPE: diluição do extrato 1:3; Sem SPE diluição do extrato 1:10. A metodologia utilizada na análise cromatográfica por CLAE encontra-se descrita no subitem 2.4 de material e métodos.

## 5.5 Avaliação da atividade antioxidante

Uma variedade de diferentes metodologias *in vivo* e *in vitro* tem sido utilizada para verificar a atividade antioxidante de substâncias isoladas, de alimentos ou bebidas. Porém, não existe um método universal simples pelo qual essa atividade possa ser medida de forma precisa e qualitativa, possuindo esses testes vantagens e desvantagens (Geöcze, 2007).

### 5.5.1 Método ABTS

O método ABTS avalia a habilidade de doação de hidrogênio de flavonoides em fase aquosa, avaliando a captura do radical ABTS<sup>•+</sup> (Heim et al., 2002).

Na Tabela 3 é mostrada a atividade antioxidante das frações de duas variedades de jabuticaba pelo teste ABTS, calculadas pela curva padrão de Trolox® aos 6 minutos de reação e pela curva padrão do ácido ascórbico, e o teste fosfomolibdênio.

A casca da variedade Sabará apresentou maior atividade antioxidante que a da Paulista, tanto em equivalente de Trolox® (2,06 mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>), quanto de ácido ascórbico (146,63 mg g<sup>-1</sup>). Esse resultado indica que 1 g da casca da variedade Sabará apresenta o potencial antioxidante de 2,06 mmol L<sup>-1</sup> do Trolox® e o equivalente ao poder antioxidante de 146 mg de vitamina C. As polpas apresentaram atividade antioxidante inferior ao Trolox® nas duas variedades e a semente da variedade Sabará tem atividade antioxidante equivalente ao Trolox®.

Os padrões apresentaram uma atividade antioxidante equivalente ao Trolox® de 3,45 mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> para a rutina e de 22,02 mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> para a quercetina, e equivalente a vitamina C de 255,60 mg g<sup>-1</sup> para a rutina e de 1.527,90 mg g<sup>-1</sup> para a quercetina. A rutina possui uma estrutura semelhante à da quercetina, mas com uma substituição glicosídica em uma das hidroxilas; por

essa razão, apresenta menor atividade antioxidante, demonstrando a sensibilidade do método frente a pequenas alterações na estrutura da molécula (Duarte-Almeida et al., 2006).

TABELA 3 Atividade antioxidante de extratos etanólicos do fruto inteiro e suas frações (matéria seca) e de dois padrões, determinada pelo teste ABTS e do fosfomolibdênio.

Variedade	ABTS		Fosfomolibdênio
	Equivalente à Trolox mmol L <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup>	Equivalente à Vitamina C mg g <sup>-1</sup>	Equivalente à vitamina C mg g <sup>-1</sup>
<b>Paulista</b>			
Casca	1,56 ± 0,13 d A	99,99 ± 2,76 c A	159,73 ± 11,48 d B
Polpa	0,08 ± 0,01 a A	6,06 ± 0,77 a A	29,18 ± 0,75 a A
Semente	0,92 ± 0,08 b A	67,73 ± 4,27 b A	68,58 ± 0,92 b A
Fruto inteiro	1,20 ± 0,11 c A	97,28 ± 7,28 c B	113,53 ± 18,81 c A
<b>Sabará</b>			
Casca	2,06 ± 0,02 c B	146,63 ± 0,95 c B	142,89 ± 4,06 d A
Polpa	0,09 ± 0,01 a A	6,67 ± 0,85 a A	32,64 ± 2,27 a A
Semente	1,1 ± 0,26 b A	76,89 ± 12,30 b A	66,10 ± 1,28 c B
Fruto inteiro	1,21 ± 0,06 b A	82,14 ± 2,79 b A	127,56 ± 3,23 c A
CV (%)	11,38	7,51	8,72
Quercetina	22,02 ± 1,00	1.527,90 ± 49,00	512,69 ± 28,62
Rutina	3,45 ± 0,03	255,60 ± 2,77	290,89 ± 15,7

Os dados são as médias de 3 repetições ± desvio-padrão. Letras minúsculas na coluna comparam entre as frações e maiúsculas comparam entre as variedades. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

Teor de umidade das amostras: capítulo 2, item 3.

Observa-se que as amostras de jabuticaba apresentaram atividade antioxidante muito inferior a esses dois padrões, considerando que as duas antocianinas encontradas nas cascas das variedades de jabuticaba estudadas,

cianidina 3-glicosídeo e delphinidina 3-glicosídeo, apresentam em suas estruturas grupos hidroxila na posição 5, 7, 3' e 4' na cianidina e nas posições 5, 7, 3', 4' e 5' na delphinidina, como é mostrado na Figura 7. Era de se esperar um melhor resultado; todavia, os níveis de delphinidina foram bem inferiores aos de cianidina (Tabela 2) e eles não se encontram na forma isolada como os padrões. A maior capacidade antioxidante da delphinidina sobre a cianidina foi comprovada experimentalmente por Kuskoski et al. (2004).

Segundo Heim et al. (2002), a capacidade de captura do radical livre é primariamente atribuída à alta reatividade de hidroxilas substituintes da estrutura do flavonoide. A configuração de hidroxilas do anel B é o determinante mais significativo da captura de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS). Seu potencial antioxidante depende do número e da posição dos grupos hidroxilas e de sua conjugação, assim como da presença de elétrons doadores nos anéis aromáticos. A presença de hidroxilas nas posições 3' e 4' do anel B contribuem para a elevada capacidade antioxidante também encontrada nas flavonas e confere uma elevada estabilidade ao radical formado. Portanto, os flavonoides com um maior número de grupos hidroxila têm maior atividade antioxidante. Consistente com a maioria dos polifenóis antioxidantes, ambos, a configuração e o número total de grupos hidroxilas, influenciam substancialmente nos vários mecanismos de atividade antioxidante.

Assim como a eficácia dos flavonoides está relacionada com o grau de hidroxilação, também diminui com a substituição por açúcares, apresentando com os glicosídeos menor atividade antioxidante do que suas agliconas correspondentes (Kuskoski et al., 2004).

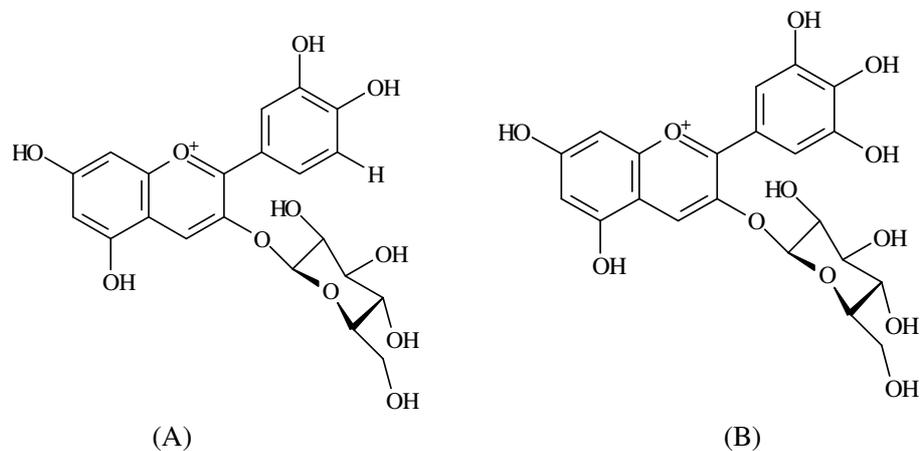


FIGURA 7 Estruturas da cianidina 3 glicosídeo (A) e delphinidina 3-glicosídeo (B).

Geöcze (2007), analisando a atividade antioxidante de licores de jabuticaba da variedade Sabará (fazendo uso das cascas), encontraram valores de TEAC que variaram de 1,88 a 2,88 mM L<sup>-1</sup>, calculados após 2 minutos de reação, e de 2,48 a 3,61 mM L<sup>-1</sup>, após 15 minutos de reação. O processo de fabricação do licor promove uma grande extração dos pigmentos da fruta e mostraram nesses resultados, com elevados teores de TEAC, que a jabuticaba apresenta elevada capacidade antioxidante.

Kuskoski et al. (2005) encontraram para polpas (frescas) congeladas de diferentes frutas os seguintes valores de TEAC (mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>): acerola, 0,068; manga, 0,013; morango, 0,012; açaí, 0,0094; uva, 0,0092. Transformando os dados encontrados de TEAC em jabuticaba, para matéria fresca, tem-se 0,014 mmol L<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> para as polpas da variedade Paulista e Sabará, correspondendo aos valores encontrados para a manga e morango.

Como as sementes de jabuticaba mostraram teores de antocianinas relativamente baixos (Tabela 1), mas com capacidade antioxidante considerável,

parece que outras substâncias presentes nas sementes estão exercendo tal capacidade.

### **5.5.2 Método fosfomolibdênio**

As cascas apresentaram maior capacidade antioxidante, sendo superior na variedade Paulista, diferentemente do teste ABTS, que mostrou maior atividade nas cascas da variedade Sabará (Tabela 3). As frações apresentaram resultados diferenciados de capacidade antioxidante, sendo bem mais baixo nas polpas. Assim como no teste ABTS, os extratos etanólicos das diferentes partes da fruta demonstraram ter diferentes níveis de atividade antioxidante.

Kubola & Siriamornpun (2008), avaliando a atividade antioxidante de diferentes partes da planta *Momordica charantia* L., encontraram diferentes resultados para cada método analisado. Em 5 diferentes testes, os resultados de melhor desempenho alternaram-se entre as diferentes partes da planta, demonstrando que cada amostra pode desempenhar atividades antioxidantes distintas em diferentes testes.

Além dos diversos compostos antioxidantes presentes nos extratos, a atividade antioxidante depende ainda do efeito sinérgico entre esses compostos.

Os resultados do teste do fosfomolibdênio nas duas variedades de jabuticaba mostraram que a fruta, principalmente a casca, apresenta elevada atividade antioxidante, mas menor do que a apresentada pela quercetina e rutina.

### **5.5.3 Método $\beta$ -caroteno/ácido linoleico**

Na Tabela 4 foram reunidos os resultados de inibição da oxidação lipídica dos extratos etanólicos, no sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, em 3 concentrações dos extratos. Na variedade Sabará, todas as frações obtiveram estatisticamente a mesma atividade antioxidante, para a concentração de

2 mg mL<sup>-1</sup>, concentração que é comum a todas as frações. Já na Paulista, a polpa demonstrou menor inibição da oxidação do ácido linoleico que as outras amostras. Entre as variedades, ocorreu diferença significativa de atividade antioxidante apenas na polpa, em que a variedade Sabará apresentou maior inibição da oxidação lipídica. Todas as frações apresentaram menor atividade antioxidante que a quercetina e o Trolox®, porém, não tão discrepantes quanto os resultados dos outros métodos empregados no presente trabalho.

A atividade antioxidante pode ser devido à grande quantidade de pigmentos antociânicos (casca e fruto inteiro) e ao efeito sinérgico entre outras substâncias presentes nos extratos, como outros compostos fenólicos e a vitamina C, principalmente nas polpas e sementes, que apresentam baixos teores de pigmentos. Frutas como a uva, alichia, manga e pera apresentaram maior atividade antioxidante nas sementes que nas polpas em testes realizados por Guo et al. (2003). Segundo os autores, apesar de as sementes de uva serem ricas em proantocianidinas, não há na literatura outros dados que possam explicar essa atividade antioxidante nas sementes.

Outros fatores interferem na atividade antioxidante da planta, além de seus constituintes químicos e origem geográfica. O método analítico de extração é um deles. Kaur & Kapoor (2002), utilizando o método do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico para a medição da atividade antioxidante de hortaliças, demonstraram que o extrato alcoólico mostrou melhores resultados que o extrato aquoso.

Martinez-Valverde et al. (2002) também observaram a interferência do solvente. Segundo os autores, a extração com água/etanol (1:1) poderia favorecer a extração de pequenas quantidades de carotenoides, além de compostos fenólicos. O extrato aquoso pode arrastar outros compostos polares, como a vitamina C, influenciando na quantificação da atividade antioxidante de compostos, quando analisados em diferentes testes.

Pode-se dizer que a jabuticaba apresenta elevada atividade antioxidante, inibindo ou retardando a oxidação, demonstrada no teste do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

A utilização de vários métodos antioxidantes permite maior precisão na indicação do potencial antioxidante da fruta. Interações entre antioxidantes podem apresentar efeitos que não seriam observados quando os elementos são testados isoladamente (Borguini, 2006).

TABELA 4 Atividade antioxidante do fruto inteiro e de suas frações de duas variedades de jabuticaba pelo método de  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Variedade	Conc.	Inib. oxidação	Variedade	Conc.	Inib. oxidação
Paulista	(mg mL <sup>-1</sup> )	(%)	Sabará	(mg mL <sup>-1</sup> )	(%)
Casca	2	76,0 ± 2,40 b A	Casca	2	72,72 ± 4,74 a A
	1	75,02 ± 5,52		1	70,80 ± 4,58
	0,5	71,33 ± 5,75		0,5	64,61 ± 4,62
Polpa	4	57,05 ± 3,14	Polpa	4	69,26 ± 5,87
	2	48,44 ± 4,19 a A		2	66,83 ± 7,50 a B
	1,33	44,11 ± 3,50		1,33	59,81 ± 9,08
Semente	4	80,01 ± 2,16	Semente	4	74,65 ± 1,45
	2	73,79 ± 0,05 b A		2	69,87 ± 1,30 a A
	1	60,26 ± 10,0		1	68,75 ± 0,62
Fr. inteiro	2	68,18 ± 6,16 b A	Fr. inteiro	2	71,82 ± 0,20 a A
	1	64,80 ± 3,73		1	69,87 ± 2,13
	0,5	41,94 ± 1,71		0,5	67,57 ± 11,21
Quercetina	2	100,0 ± 0,0	Trolox®	2	99,59 ± 0,58
	1	92,40 ± 0,30		1	95,26 ± 6,71
	0,5	86,84 ± 1,94		0,5	93 ± 4,43

Os dados são a média de 3 repetições ± desvio-padrão.

Teste de média das frações com concentração de 2 mg mL<sup>-1</sup>. Letras minúsculas comparam entre as frações e maiúsculas na coluna comparam entre as variedades. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P ≤ 0,05).

Teor de umidade das amostras: capítulo 2, item 3.

#### **5.5.4 Correlação entre compostos antioxidantes e atividade antioxidante**

Para avaliar a relação entre os testes antioxidantes e os teores de polifenóis (Tabela 4, capítulo 2), de antocianinas (Tabela 1, deste capítulo) e de vitamina C (Tabela 3, capítulo 3), foi realizada uma análise de regressão linear e sua precisão avaliada com o  $R^2$  (Tabela 5). Os testes antioxidantes ABTS, equivalente à Trolox e equivalente à vitamina C, apresentaram a melhor correlação com os polifenóis, antocianinas e vitamina C, sendo que a precisão com o uso de ABTS equivalente à Trolox obteve um  $R^2$  de 0,91, 0,69 e 0,74, respectivamente. No entanto, o uso de ácido linoleico/ $\beta$ -caroteno foi o teste que apresentou menor correlação com as variáveis analisadas.

Segundo Heim et al. (2002), os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos, o que pode ser observado nas cascas, que apresentam maior atividade antioxidante e maiores teores de compostos fenólicos.

Kubola & Siriamornpun (2008) também não encontraram correlação significativa entre fenólicos totais e o teste ácido linoleico/ $\beta$ -caroteno, em estudo realizado com o fruto *Momordica charantia* L.

A vitamina C é o antioxidante hidrossolúvel mais abundante nas plantas. Entretanto, alguns testes antioxidantes têm revelado baixa atividade antioxidante em frutos e vegetais ricos em vitamina C, demonstrando que a vitamina C pode apresentar ação pró-oxidante (Duarte-Almeida et al., 2006).

TABELA 5 Correlação entre os teores de polifenóis, antocianinas totais e vitamina C e a atividade antioxidante.

Teste antioxidante	Polifenóis		Antocianinas		Vitamina C	
	Equação	R <sup>2</sup>	Equação	R <sup>2</sup>	Equação	R <sup>2</sup>
ABTS (Trolox)	0,6085 + 6,108*x	0,91	-0,3674+ 0,976*x	0,69	156,2580+ 4,294*x	0,74
ABTS (vit. C)	0,6878 + 0,085*x	0,87	-0,3447 + 0,0134*x	0,63	156,1373+ 0,910*x	0,73
Fosfomolibênio	0,0793 + 0,074*x	0,73	-0,6387 + 0,0138*x	0,38	147,4160+ 0,812*x	0,65
Ác. linoleico/ β-caroteno	-12,999+ 0,292*x	0,40	-1,2056 + 0,0270*x	0,10	60,6300 + 2,378*x	0,19

A acerola, por exemplo, apesar dos elevados teores de antocianinas, apresentou baixa atividade antioxidante no teste do ácido linoleico/ $\beta$ -caroteno. A baixa contribuição da vitamina C em testes antioxidantes também foi verificada anteriormente por outros autores (Hassimotto et al., 2005). Duarte-Almeida et al. (2006) também verificaram que a acerola (rica em vitamina C) apresentou elevada atividade antioxidante no método de sequestro de radicais livres (DPPH) e baixa atividade no sistema ácido linoleico/ $\beta$ -caroteno, diferentemente do açai que, com mais baixos teores de vitamina C e mais elevados de antocianinas, apresentou a maior porcentagem de inibição da oxidação lipídica no sistema ácido linoleico/ $\beta$ -caroteno e inferior atividade antioxidante no teste DPPH. Esse resultado demonstrou uma correlação positiva entre polifenóis e atividade antioxidante. Esse estudo demonstrou que a atividade antioxidante pode ser determinada usando vários sistemas antioxidantes. Entretanto, existem várias limitações metodológicas para as determinações. Para a jabuticaba o teste ABTS apresentou uma melhor correlação frente aos polifenóis, antocianinas e vitamina C.

Mais estudos devem ser feitos visando ao de isolamento de pigmento, com maior estabilidade, para que o fruto possa ser mais bem utilizado, agregando-lhe valor e diminuindo, assim, o desperdício das partes não consumíveis.

## 6 CONCLUSÃO

O método de extração por maceração empregando o etanol 50% e/ou etanol 95% acidificado com HCl 1,5 mol L<sup>-1</sup> (85:15), usando a proporção 1:15 (1 g amostra:15 mL de solvente), é o melhor para a extração de antocianinas de jabuticaba, resultando em um extrato de pH baixo, no qual as antocianinas são mais estáveis.

As antocianinas das cascas de jabuticaba são relativamente estáveis, tanto na presença quanto na ausência de luz, em temperatura ambiente e por um tempo de estocagem de 185 dias.

As cascas de jabuticabas são ricas em pigmentos antociânicos e apresentam duas antocianinas; cianidina 3-glicosídeo e delphinidina 3-glicosídeo.

A jabuticaba mostra elevada capacidade antioxidante, tanto nos testes de captura de radicais livres, quanto na proteção contra a oxidação lipídica, tendo potencial para ser utilizada como aditivo na indústria alimentícia, com possíveis benefícios à saúde do consumidor.

## 7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADBEL-ALL, E. S. M.; HUCL, P. Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 8, p. 2174-2180, Apr. 2003.

BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe aleracea*) Mart. S. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 388-390, set./dez. 2000.

BORGUINI, R. G. **Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação ao convencional**. 2006. 178 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo, São Paulo.

BROUILLARD, R.; DUBOIS, J. E. Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in aqueous media. **Journal of American Chemistry Society**, Easton, v. 99, n. 5, p. 1359-1363, Mar. 1977.

CABRITA, L.; FOSSEN, T.; ANDERSEN, O. M. Color and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. **Food Chemistry**, London, v. 68, n. 1, p. 101-107, Jan. 2000.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH\*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p.446-452, abr./jun. 2006.

EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, London, v. 84, n. 1, p. 23-28, Jan. 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Agroindústria Tropical. **Teste antioxidante de ABTS**. (2007). Disponível em: <http://http://www.cnpat.embrapa.br/>>. Acesso em: 10 nov. 2008.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 4. 6 (build 61) software. Lavras: Dex/UFLA, 2003. Disponível em: < <http://www.dex.ufla.br/danielff/dff02.htm>>. Acesso em: 18 jun. 2006.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Food World**, Minneapolis, v. 45, n. 5, p. 208-213, May 2000.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, n. 1, p. 72-77, Jan. 1968.

GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. **Phytochemical Analysis**, Sussex, v. 9, n. 6, p. 274-278, Nov./Dec. 1998.

GEÖCZE, A. C. **Influência da preparação do licor de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg) no teor de compostos fenólicos**. 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GIUSTI, M. M.; RODRÍGURZ-SAONA, L. E.; BAGGET, J. R.; REED, G. L.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin pigment composition of red radish cultivars as potential food colorants. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n. 2, p. 219-224, Mar. 1998.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, v. 23, n. 12, p. 1719-1726, Dec. 2003.

HASSIMOTO, N. M.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 8, p. 2.928-2.935, Apr. 2005.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stonelam, v. 13, n. 9, p. 572-584, Sept. 2002.

HEREDIA, F. J.; FRANCA-ARICHA, E. M.; RIVAS-GONZALO, J. C.; VICARIO, I. M.; SANTOS-BUEGA, C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes – pH effects. **Food Chemistry**, London, v. 63, n. 4, p. 491-498, Dec. 1998.

HONG, V.; WROLSTAD, R. E. Use of HPLC separation/photodiode array detection for the characterization of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 3, p. 708-715, Mar. 1990.

IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins, and related flavilium salts. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 39, n. 19, p. 3005-3012. Oct. 1983.

JING, P.; GIUSTI, M. M. Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin – rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 6, p. 363-367, Aug. 2007.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asianh vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, n. 2, p. 153-161, Feb. 2002.

KUBOLA J.; SIRIAMORNPNUN, S. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. **Food Chemistry**, London, v.110, n. 4, p. 881-890, Oct. 2008.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; GARCIA-PARILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 691-693, oct./dic. 2004.

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**, Campinas, v. 25, n. 4, p.726-732, oct./dic. 2005.

LEE, H. S.; HONG, V. Chromatographic analysis of anthocyanins. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 624, n. 1/2, p. 221-234, Oct. 1992.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84, Feb. 1972.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 58, n.4, p.416-421, dez. 2008.

LIMA, V. L. A. G. de; GUERRA, N. B. Antocianinas: atividade antioxidante e biodisponibilidade. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, p. 121-128, dez. 2003. Suplemento.

LIMA, V. L. A. G. de; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Efeito da luz e temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 92-94, jan./mar. 2005.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, jan./jun. 2006.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic, 1982. p. 163-180.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; PROVAN, G. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 82, n. 3, p. 323-330, Feb. 2002.

MAZZA, G. Anthocyanins in grape and grape products. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 35, n. 4, p. 341-371, July 1995.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, London, v. 25, n. 3, p. 207-225, 1987.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton: CRC, 1993. p. 362.

METIVIER, R. P.; FRANCIS, F. J.; CLYDESDADE, F. M. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 45, n. 4, p.1099-1100, July 1980.

PAZMINÕ-DURAN, E. A.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E.; GÓRIA, M. A. B. Anthocyanins from banana bracts (*Musa X Paradisiaca*) as potential food colorants. **Food Chemistry**, London, v. 73, n. 3, p. 327-332, May 2001.

PRATA, E. R. B. A. **Identificação de antocianinas e composição química de casca de diferentes variedades de café (*Coffea arabica*)**. 2005. 73 p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, n. 2, p.337-341, May 1999.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, May 1999.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of several procedures used for extraction of anthocyanins from red grape. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 11, p.4592-4597, Nov. 1998.

SUJA, K. P.; JAYALEKSHMY, A.; ARUMUGHAN, C. Antioxidant activity of sesame cake extract. **Food Chemistry**, London, v. 91, n. 2, p. 213-219, June 2005.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. 224 p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

WILKINSON, M.; SWWNY, J. G.; IACOBUCCI, G. A. High-pressure liquid chromatography of anthocyanidins. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 132, n. 2, p. 349-351, Feb. 1977.

ZANATTA, C. F.; CUEVAS, E.; BOBBIO, F. O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A. Z. Determination of anthocyanins from Camu-camu (*Myrciaria dúbia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 24, p. 9531-9535, Nov. 2005.

## ANEXOS

<b>ANEXO A</b>		<b>Página</b>
TABELA 1A	Resumo da análise de variância da composição centesimal do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.....	147
TABELA 2A	Resumo da análise de variância de SST, ATT e pH do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.....	148
TABELA 3A	Resumo da análise de variância de antinutrientes do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.....	148

TABELA 1A Resumo da análise de variância da composição centesimal do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.

FV	GL	Quadrado Médio					
		Proteína bruta	Extrato etéreo	Cinzas	Fibra Solúvel	Fibra insolúvel	Extrato não nitrogenado
Variedade (V)	1	0,011 NS	0,021**	0,644**	0,150 NS	1,927 NS	18,630 NS
Fração (F)	3	0,614**	0,283**	1,687**	39,182**	783,347**	1.058,622**
V*F	3	0,0001 NS	0,012*	1,019**	1,700*	2,634 *	1,4406 NS
Erro	16	0,003	0,002	0,033	0,120	0,662	2,892
CV (%)		5,57	10,82	5,59	7,20	7,91	2,43

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F.

NS= Não significativo.

TABELA 2A Resumo da análise de variância de sólidos solúveis totais, acidez total titulável e pH do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.

FV	GL	Quadrado Médio		
		SST	ATT	pH
Variedade (V)	1	14,260**	0,244**	0,008 NS
Fração (F)	3	14,050**	3,201**	0,377**
V*F	3	2,150*	0,596**	0,001 NS
Erro	16	0,488	0,011	0,000
CV (%)		5,67	6,33	0,78

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F.

NS= Não significativo.

TABELA 3A Resumo da análise de variância de antinutrientes do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.

FV	GL	Quadrado médio		
		Saponina	Inibidor tripsina	Polifenóis
Variedade (V)	1	0,0024*	11,6204**	5,6648**
Fração (F)	3	0,1662**	19,1516**	129,8310**
V*F	3	0,0128**	2,5794**	1,0016**
Erro	16	0,0003	0,0912	0,1093
CV (%)		2,96	7,66	4,79

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F.

<b>ANEXO B</b>		<b>Página</b>
TABELA 1B	Resumo da análise de variância de açúcares totais, redutores, não-redutores e de vitamina C do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.....	150
TABELA 2B	Resumo da análise de variância de minerais do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba...	151

TABELA 1B Resumo da análise de variância de açúcares totais, redutores, não redutores e de vitamina C do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.

FV	GL	Quadrado Médio			
		Açúcares totais	Açúcar redutor	Açúcar não-redutor	Vitamina C
Variedade (V)	1	43,848**	12,170 NS	8,882**	4.346,503*
Fração (F)	3	2.114,919**	1.138,783**	142,361**	12.745,177**
V*F	3	33,907**	72,922**	29,957**	903,189 NS
Erro	16	2.641,754	3,694	0,875	566,267
CV (%)		3,22	4,43	13,77	10,69

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F.

NS= Não significativo.

TABELA 2B Resumo da análise de variância de minerais do fruto e de suas frações de duas variedades de jabuticaba.

FV	GL	Quadrado Médio							
		Ca	K	Mg	Na	P	Cu	Mn	Fe
Variedade (V)	1	4,167 NS	34.504,167**	504,167**	3.539,296**	37,500 NS	0,058**	0,019 NS	1,419*
Fração (F)	3	270,833*	176.815,278**	1.959,722**	353,495**	3.293,055**	0,447**	0,563*	2.621,577**
V*F	3	148,611*	35.981,944**	15,278 NS	5,677 NS	4,167 NS	0,021**	0,009 NS	20,042**
Erro	16	45,833	1.162,500	29,167	3,389	29,167	0,001	0,046	0,165
CV (%)		12,13	3,04	5,97	3,89	7,16	3,04	16,65	6,21

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F.

NS= Não significativo.

<b>ANEXO C</b>	<b>Página</b>
FIGURA 1C	Espectro de massa do pico de 19,06min. de amostra de óleo de semente de jabuticaba da variedade Sabará, comparado com espectro de massa do metil palmitato da biblioteca de padrões..... 153
FIGURA 2C	Espectro de massa do pico em 22,22 min. de amostra de óleo de semente de jabuticaba da variedade Paulista, comparado com espectro de massa do metil linoleato da biblioteca de padrões..... 154
FIGURA 3C	Espectro de massa do pico em 22,39 min. de amostra de óleo de semente de jabuticaba da variedade Sabará, comparado com espectro de massa do metil oleato da biblioteca de padrões..... 155
FIGURA 4C	Espectro de massa do pico em 34.34 min. do óleo de semente de jabuticaba da variedade Sabará, comparado com espectro de massa do esqualeno da biblioteca de padrões..... 156
FIGURA 5C	Espectro de massa do pico em 41.14 min. de amostra de óleo de semente variedade Sabará, comparado com espectro de massa do colest -5-en-3-ol da biblioteca de padrões..... 157

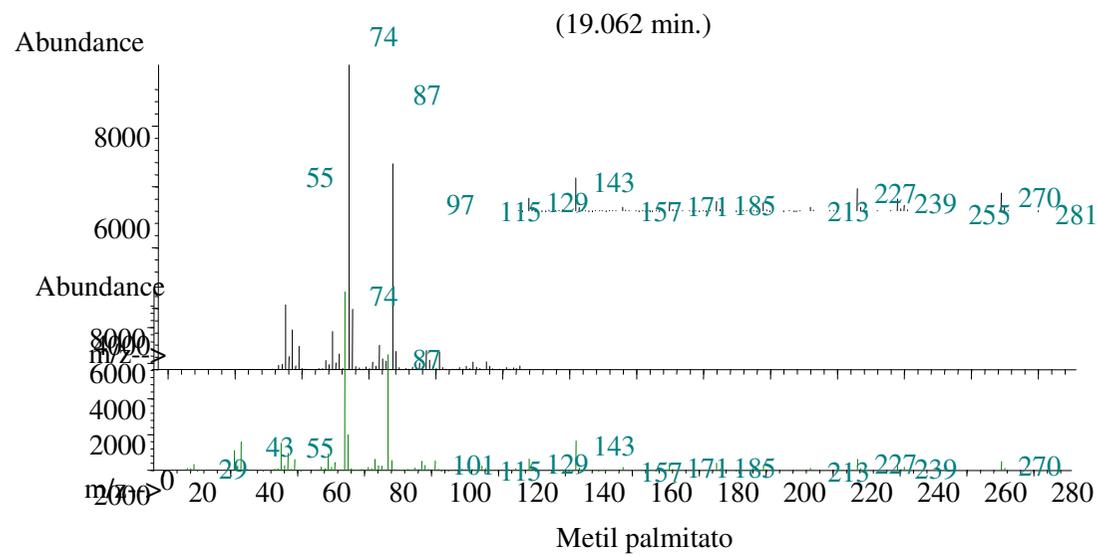


FIGURA 1C Espectro de massa do pico de 19,06' de amostra de semente da variedade Sabará, comparado com espectro de massa do metil palmitato da biblioteca de padrões.

280

260

240

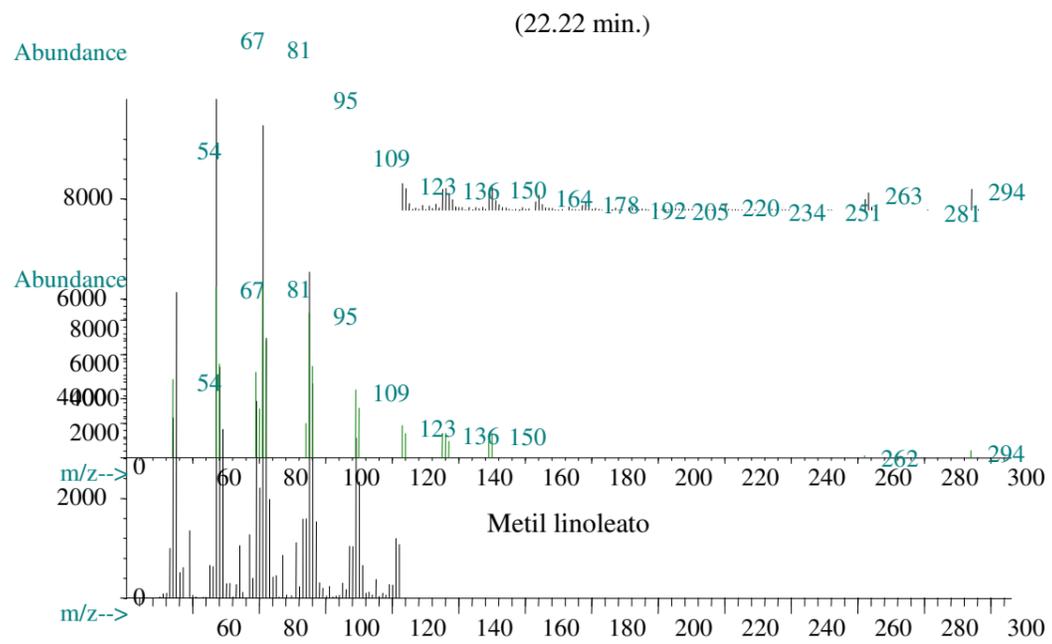


FIGURA 2C Espectro de massa do pico em 22,22 min. de amostra de óleo de semente da variedade Paulista, comparado com espectro de massa do metil linoleato da biblioteca de padrões.

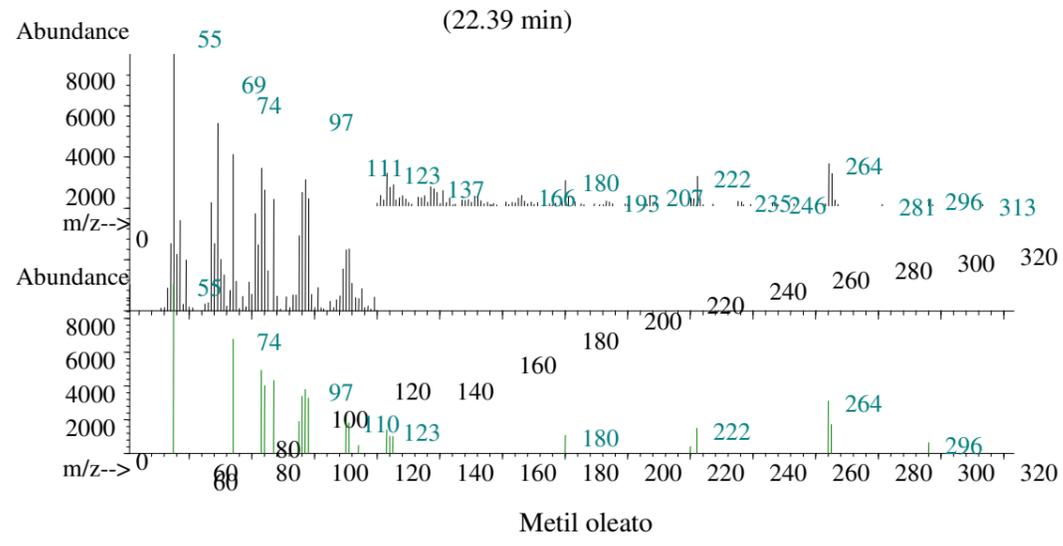


FIGURA 3C Espectro de massa do pico em 22,39 min. de amostra de óleo de semente da variedade Sabará, comparado com espectro de massa do metil oleato da biblioteca de padrões.

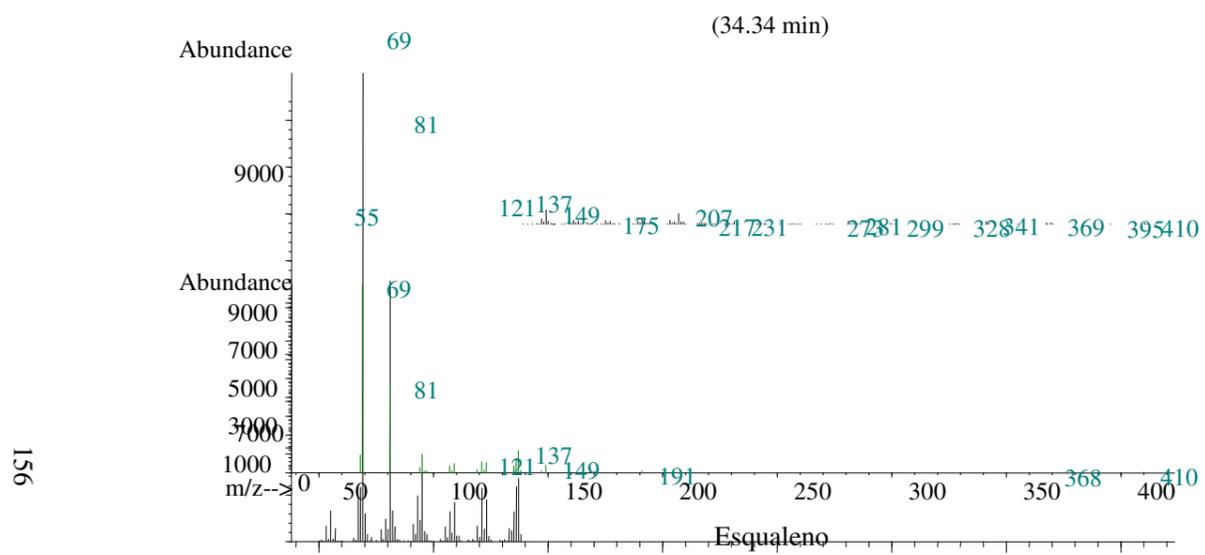


FIGURA 4C Espectro de massa do pico em 34,34 min. de amostra de óleo de semente variedade Paulista, comparado com espectro de massa do esqualeno da biblioteca de padrões.

5000

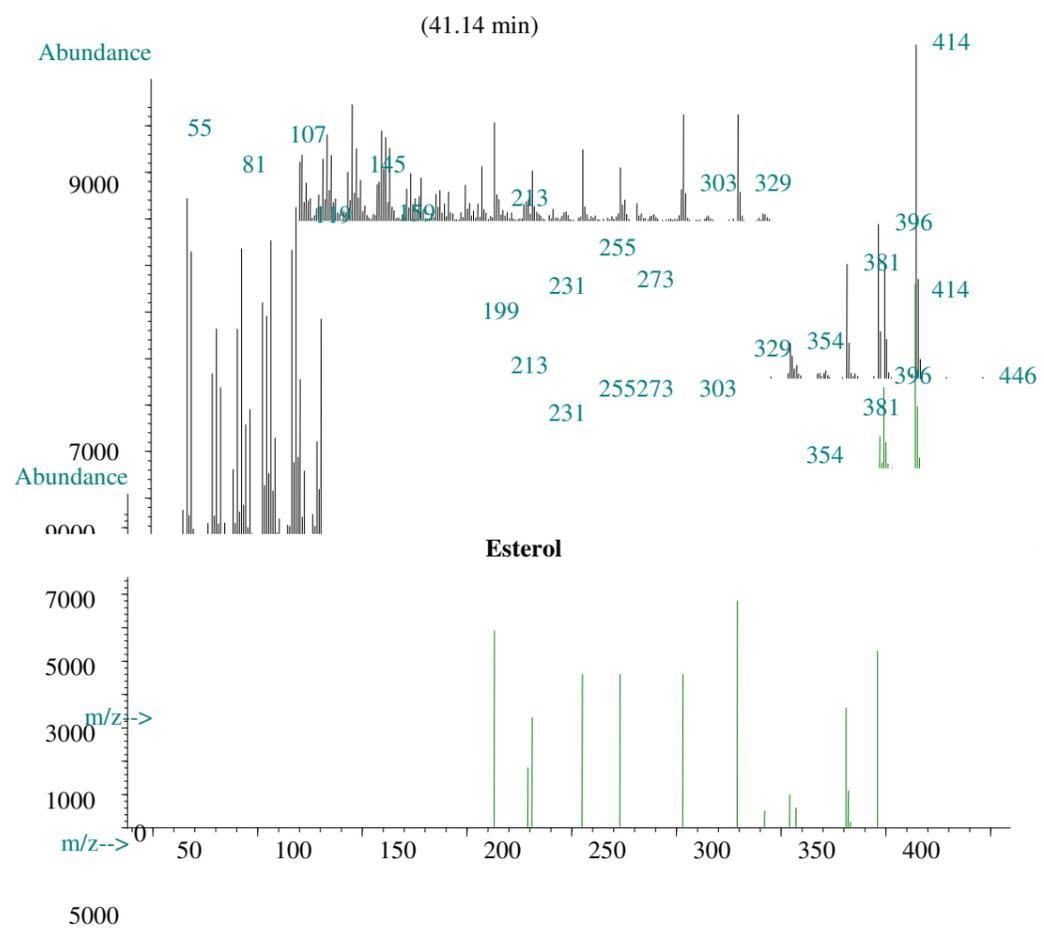


FIGURA 5C Espectro de massa do pico em 41.14 min. de amostra de óleo de semente variedade Sabará, comparado com espectro de massa do colest -5-en-3-ol da biblioteca de padrões.

<b>ANEXO D</b>		<b>Página</b>
TABELA 1D	Resumo da análise de variância de antocianinas totais do fruto e suas frações de duas variedades de jabuticaba.....	159
TABELA 2D	Resumo da análise de variância para as análises de regressão dos testes de atividade antioxidante.....	159

TABELA 1D Resumo da análise de variância de antocianinas totais do fruto e suas frações de duas variedades de jabuticaba.

FV	GL	Quadrado Médio
		Antocianinas totais
Variedade (V)	1	21,803*
Fração (F)	3	432,727*
V*F	3	8,198*
Erro	16	0,245
CV (%)		7,75

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA 2D Resumo da análise de variância para as análises de regressão dos testes de atividade antioxidante.

FV	GL	Quadrado Médio		
		Polifenóis	Antocianina	Vitamina C
ABTS trolox	1	364,75*	9,3180*	40420*
ABTS vit. C	1	346,47*	8,6738*	39526*
Fosfomolibdênio	1	293,087*	10,2720*	35505*
Ác. Linol/ $\beta$ caroteno	1	159,991*	1,3739*	10586*

\*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.