



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



**RESÍDUO DA INDÚSTRIA DE POLPA CONGELADA DE UVA (CULTIVAR
ISABEL) COMO FONTE DE ANTOCIANINAS**

KARLLA KARINNE GOMES DE OLIVEIRA

Recife/PE

2015

KARLLA KARINNE GOMES DE OLIVEIRA

**RESÍDUO DA INDÚSTRIA DE POLPA CONGELADA DE UVA (CULTIVAR
ISABEL) COMO FONTE DE ANTOCIANINAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR/A: Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia Arroxelas Galvão de Lima.

CO-ORIENTADOR/A: Prof^a. Dr^a. Enayde de Almeida Melo.

Recife/PE

2015

Ficha catalográfica

O48r Oliveira, Karlla Karinne Gomes de
Resíduo da indústria de polpa congelada de uva (cultivar Isabel) como fonte de antocianinas / Karlla Karinne Gomes de Oliveira. – Recife, 2015.
81 f.: il.

Orientadora: Vera Lúcia Arroxelas Galvão de Lima.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Ciências Domésticas, Recife, 2015.
Referências.

1. *Vitis labrusca* L. 2. Atividade antioxidante
3. Estabilidade I. Lima, Vera Lúcia Arroxelas Galvão de, orientadora II. Título

CDD 664

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

**RESÍDUO DA INDÚSTRIA DE POLPA CONGELADA DE UVA (CULTIVAR
ISABEL) COMO FONTE DE ANTOCIANINAS**

Por Karlla Karinne Gomes de Oliveira

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 23/02/2015 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia Arroxelas Galvão de Lima – Presidente da Banca
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Enayde de Almeida Melo – Membro Interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Luciana Leite de Andrade Lima – Membro Externo
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Aos meus pais, por todos os ensinamentos que me fizeram ser quem sou hoje e por todo o apoio e incentivo sempre na minha educação.

Ao meu esposo, Rérisom, por nunca me deixar esmorecer e sempre me apoiar nas minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder saúde e força para concluir mais essa etapa.

À Rérisson, por me dar forças, entender minhas ausências e acreditar sempre que eu posso dar o meu melhor.

Aos meus pais, que mesmo de longe, sempre torceram pelo meu sucesso e confiaram na minha capacidade.

Ao meu irmão e minha avó, pela força e apoio sempre.

À Prof^a. Vera Arroxelas, pela grandiosa orientação, por ter confiado em mim desde o primeiro momento, ter me aceito como sua orientanda, por todas as horas dedicadas à nossa pesquisa, por sempre ter me apoiado quando precisei, por todos os ensinamentos e pela sua amizade.

À Prof^a. Enayde Almeida, minha coorientadora, pela paciência, ensinamentos e dedicação.

Aos demais professores do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRPE, que muito contribuíram na construção do conhecimento.

À Rafaella Bastos, minha companheira de pesquisa, por todo o apoio e auxílio durante os experimentos, pelos inúmeros ensinamentos e pela grande amiga que se tornou.

Aos amigos que tive a oportunidade de dividir toda essa caminhada, Samara Macêdo, Wallace Batista, Patrícia Farias, Alinne Demétrio, por tornarem essa etapa mais prazerosa e por terem aberto as portas das suas casas todas as vezes em que precisei no decorrer da minha pesquisa.

À Jaqueline Ferreira, técnica do Laboratório de Análises Físico-Químicas de Alimentos, pela ajuda e disponibilidade sempre.

À Nathália Barbosa, PIBIC deste projeto, pelo auxílio na reta final dos experimentos.

À Rogério, funcionário da FRUTOP Ciprodal, pela concessão do resíduo agroindustrial de uva, material essencial para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Departamento de Ciências Domésticas por conceder a infraestrutura para a realização dos experimentos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

“A persistência é o menor caminho para o êxito”.

— Charles Chaplin

RESUMO

As agroindústrias processadoras de frutas tropicais têm gerado resíduos que podem apresentar grande potencial, pois além de possuir constituintes nutritivos, ainda apresentam significantes teores de compostos bioativos. Assim, esta pesquisa teve como objetivo utilizar resíduo de polpa congelada de uva para extrair e purificar antocianinas, avaliar sua capacidade antioxidante assim como, sua estabilidade frente à luz e ao calor. O resíduo foi cedido por uma unidade processadora (Recife – PE), cujas uvas da cultivar Isabel (*Vitis labrusca* L.) foram provenientes da cidade de São Vicente Férrer – PE. O teor de antocianinas foi quantificado pelo método de pH diferencial e sua purificação, utilizando cartuchos C₁₈, promoveu a remoção de açúcares, ácidos e compostos fenólicos não antociânicos. A atividade antioxidante das antocianinas purificadas foi avaliada pela capacidade de sequestrar os radicais DPPH[•] (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfônico), tendo o ácido gálico como composto de referência. Para avaliar a estabilidade à luz, antocianinas foram diluídas em solução de etanol 95%:HCl 1,5N; 85:15 v/v (pH=1,0) e expostas à luz e à ausência de luz. Para avaliar o efeito do calor, antocianinas foram diluídas em água, acidificada com HCl (pH=1,0) e submetidas a temperaturas de 50°C, 70°C e 90°C, em banho termostatizado. Leituras da absorbância foram efetuadas após 1, 3, 5 e 7 horas de aquecimento. Os dados obtidos na leitura da absorbância das antocianinas diluídas foram utilizados para o cálculo da constante de velocidade (k) e do tempo de meia vida ($t_{1/2}$) utilizando equações cinéticas de 1ª ordem. O teor de antocianinas totais no resíduo de uva foi de $15,56 \pm 0,33 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de resíduo. As antocianinas purificadas apresentaram boa eficiência frente ao radical DPPH[•] (EC_{50} de $0,14 \pm 0,01 \text{ g} \cdot \text{g DPPH}^{-1}$ e $\text{TEC}_{50} < 5$ minutos) e forte capacidade de sequestrar (> 80%). Frente ao radical ABTS^{•+} as antocianinas apresentaram capacidade de sequestro de $241,36 \pm 3,74 \mu\text{mol TEAC} \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra. Os resultados obtidos evidenciaram que em presença de luz, o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) dos pigmentos antociânicos foi de 656,87h e na ausência de luz foi de 6.525,42h, demonstrando que a ausência de luz contribuiu significativamente para o aumento da estabilidade das antocianinas. As antocianinas submetidas ao calor, às temperaturas de 50°C, 70°C e 90°C apresentaram de tempo de meia vida ($t_{1/2}$) de 159,31h; 8,77h e 3,05h, respectivamente, demonstrando que estes pigmentos sofrem degradação com aumento da temperatura. Os resultados evidenciam o resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva é uma fonte promissora de antocianinas, que apresentaram significativa propriedade antioxidante, mostrando-se eficientes em capturar os radicais DPPH[•] e ABTS^{•+}, podendo ser utilizadas em alimentos que possuam pH ácido, acondicionados em embalagens opacas, e que não sejam submetidos à tratamentos térmicos severos durante seu processamento.

Palavras-chave: *Vitis labrusca* L., Atividade Antioxidante, Estabilidade.

ABSTRACT

The agribusiness processing of tropical fruits have generated waste that may have great potential, as well as having nutritional constituents, still have significant levels of bioactive compounds. Thus, this research aimed to use frozen pulp residue of grape extract and purify anthocyanins, evaluate its antioxidant capacity as well as its stability to light and heat. The residue was transferred by a processing unit (Recife - PE), whose grapes cultivar Isabel (*Vitis labrusca* L.) came from the city of São Vicente Ferrer - PE. The anthocyanin content was determined by differential pH method and its purification using C₁₈ cartridges promoted the removal of sugars, acids and not anthocyanin phenolic compounds. The antioxidant activity of purified anthocyanins was evaluated by the ability to scavenge the radicals DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), with gallic acid as reference compound. To evaluate light fastness, anthocyanins were diluted in 95% ethanol solution: 1.5N HCl; 85:15 v/v (pH 1.0) and exposed to light and no light. To assess the effect of heat, anthocyanins were diluted in water, acidified with HCl (pH = 1.0) and subjected to temperatures of 50°C, 70°C and 90°C in thermostated bath. Absorbance readings were taken after 1, 3, 5 and 7 hours of heating. The data obtained from reading the absorbance of diluted anthocyanins were used for the calculation of the rate constant (k) and half-life (t_{1/2}) using 1st order kinetics equations. The total anthocyanin content in grape residue was 15.56 ± 0.33 mg. 100g⁻¹ residue. Anthocyanins purified showed good efficiency against the radical DPPH[•] (EC₅₀ of 0.14 ± 0.01 g. g DPPH⁻¹ and T_{EC50} < 5 minutes) and strong ability to sequester (> 80%). Against the radical ABTS^{•+} anthocyanins showed sequestration capacity of 241.36 ± 3.74 μmol TEAC.g⁻¹ sample. The results showed that in the presence of light, time of half-life (t_{1/2}) of the anthocyanin pigments was 656.87h and in the absence of light was 6.525.42h, demonstrating that the absence of light contributed significantly to the increase the stability of anthocyanins. Anthocyanins subjected to heat at temperatures of 50°C, 70°C and 90°C showed a half-life (t_{1/2}) 159.31h; 8.77h and 3.05h, respectively, demonstrating that these pigments are degraded with increasing temperature. The results show the agroindustrial residue grape frozen pulp is a promising source of anthocyanins, which showed significant antioxidant properties, being efficient at capturing the DPPH[•] and ABTS^{•+} and can be used in foods that have acidic pH, put in opaque packaging, and are not subjected to severe heat treatment during processing.

Key Words: *Vitis labrusca* L., Antioxidant Activity, Stability.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Viticultura	19
3.2 Antocianinas	22
3.3 Compostos bioativos em resíduos agroindustriais	24
3.4 Antioxidantes e a indústria de alimentos	26
4. REFERÊNCIAS	29
5. CAPÍTULO I: POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS PURIFICADAS DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE POLPA CONGELADA DE UVA ISABEL	38
RESUMO	39
ABSTRACT	40
INTRODUÇÃO	41
MATERIAL E MÉTODOS	43
RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54
6. CAPÍTULO II: EFEITO DA LUZ E DA TEMPERATURA SOBRE A ESTABILIDADE DAS ANTOCIANINAS PURIFICADAS DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE POLPA CONGELADA DE UVA ISABEL	58
RESUMO	59
ABSTRACT	60
INTRODUÇÃO	61
MATERIAL E MÉTODOS	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS	76
7. CONCLUSÕES GERAIS	79

INTRODUÇÃO

O Brasil, por ser um país de elevada produção agrícola, é um dos que mais produzem resíduos agroindustriais, e por esse motivo vem crescendo em vários centros de pesquisa a busca de alternativas para utilização da matéria orgânica gerada. Esses resíduos agroindustriais contêm uma variedade de compostos biologicamente ativos e muitos deles, ricos em compostos polifenólicos (TORRES et al., 2002).

Ciente desse problema, vários pesquisadores têm dedicado seus esforços para avaliar as diversas propriedades e usos destes materiais a fim de mitigar o impacto ambiental gerado e buscar potenciais aplicações industriais que representem benefícios econômicos. Algumas das áreas dessas investigações foram a obtenção de combustíveis (PARAWIRA et al., 2008), de aromas e compostos aplicáveis à indústria alimentar (GIOIA et al., 2007), de antioxidantes naturais (HUBER et al., 2012), de biopesticidas (CAYUELA, et al., 2008), de suplementação em rações animais (GOMES et al., 2009), entre outros.

As antocianinas, pigmentos solúveis em água, são compostos fenólicos pertencentes à classe dos flavonoides (BRAVO, 1998). A propriedade antioxidante das antocianinas vem sendo estudada por diversos pesquisadores, face à sua presença em um significativo número de alimentos de origem vegetal e pela diversidade de sua estrutura química (CEREZO et al., 2010; LIMA et al., 2011; LI et al., 2012; MURTHY et al., 2012; PITIJA et al., 2013; CUI et al., 2013).

Esses pigmentos são também considerados promissores, por serem utilizados como corante natural, porém, sua estabilidade é fator limitante para a sua aplicação em alimentos. Nesse sentido, pesquisas vêm sendo conduzidas com o intuito de minimizar a perda de cor, bem como de avaliar os fatores envolvidos no processo de degradação desses pigmentos. Os aspectos relacionados à estabilidade das antocianinas têm sido amplamente investigados em fontes vegetais diversas, tais como: pitanga roxa (LIMA et al., 2005), amora (ARAMWIT et al., 2010), morango (VERBEYST et al., 2010), jaboticaba (SILVA et al., 2010), resíduo de indústrias de vinho (CLEMENTE; GALLI, 2011), jambolão (SARI et al., 2012), entre outros. Assim, as antocianinas podem ser extraídas de vários alimentos de origem vegetal, e, conseqüentemente, do material residual oriundo do processamento desses alimentos.

A cor das uvas é decorrente da presença de antocianinas as quais estão concentradas principalmente na casca, com exceção de poucas variedades cuja polpa também é pigmentada (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 1998). Diante do exposto, esta pesquisa teve o objetivo de quantificar e avaliar a capacidade antioxidante de antocianinas presentes em resíduos de uva proveniente de unidade processadora de polpa congelada, bem como avaliar a estabilidade à luz e ao calor desses pigmentos.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar as antocianinas extraídas do resíduo da indústria de produção de polpa congelada de uva quanto ao potencial antioxidante e a estabilidade à luz e ao calor.

2.2 Objetivos específicos

- Extrair e purificar antocianinas do resíduo de uva.
- Avaliar o potencial antioxidante das antocianinas extraídas do resíduo de uva.
- Verificar a estabilidade das antocianinas extraídas desse resíduo frente à luz e ao calor.

REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Viticultura

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, o Brasil foi considerado, em 2009, o segundo maior produtor mundial de frutas, produzindo cerca de 42 milhões de toneladas/ano, e o setor de fruticultura considerado um dos mais importantes segmentos do agronegócio brasileiro. A atividade apresenta grande importância social, gerando 4 milhões de empregos (TAVARES; LIMA, 2009). Entretanto, em 2013, conforme a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, a produção mundial de frutas registrou crescimento de 4,86%, em relação ao ano anterior. O Brasil passou a ser o terceiro maior produtor mundial, com 41,2 milhões de toneladas produzidas (6% da produção mundial), atrás da China (167 milhões de toneladas) e Índia (57,9 milhões de toneladas) (FAO, 2012).

Pela diversidade de climas e solos, o Brasil apresenta condições ecológicas favoráveis para produzir frutas de ótima qualidade e com uma variedade de espécies que passam pelas frutas tropicais, subtropicais e temperadas, e situações especiais que permitem a produção durante todo o ano (FLORES et al., 2005).

A videira é um arbusto trepador que se fixa em suportes por meio de gavinhas. Tem folhas alternadas, em geral simples, lobadas e denteadas. Pequenas flores esverdeadas precedem o fruto, de coloração verde-clara, rosada, vermelha ou quase negra. Existem espécimes com mais de 400 anos. Nas videiras mais antigas, quando não podadas, o tronco adquire aspecto e dimensões de verdadeira árvore. Embora qualquer uva fermente e produza vinho, apenas de 15 a 20 espécies produzem vinho de boa qualidade (BARROS et al., 1995).

O cultivo da videira europeia teve início na Ásia Menor, considerada região de origem da espécie. Posteriormente, foi extensivamente difundida na Europa e nas Américas. A uva geralmente se destina a dois mercados distintos: o do vinho e outros destilados alcoólicos e o da fruta de mesa e suco natural. As características de oferta e demanda de cada um são diferentes, com propriedades específicas, sem semelhanças em termos de aroma, cor, tamanho, etc. Os limites

de difusão do cultivo da videira nas diversas regiões do mundo estão condicionados, particularmente, à temperatura, radiação solar, umidade atmosférica e disponibilidade hídrica no solo, que condicionam o crescimento, desenvolvimento e produtividade (SMART, 1985).

Em princípio, o cultivo da videira requer invernos suaves e verões longos, quentes e secos. Com o desenvolvimento das técnicas agrícolas, algumas variedades foram adaptadas a diversos regimes climáticos e de solos. Algumas das maiores ameaças à parreira são as geadas da primavera, que atingem a planta no momento em que se encontra em pleno desenvolvimento. A propagação se faz por meio de muda, enxerto ou semente. A poda, feita uma vez por ano, é maneira eficaz de controlar a periodicidade e qualidade das colheitas (PEDRO JÚNIOR; SENTELHAS, 2003).

A uva é o fruto da videira, ou parreira, nome que se aplica a cerca de sessenta espécies do gênero *Vitis*, da família das vitáceas, com variedades que podem ser consumidas ao natural como frutas de mesa; dessecadas, para a produção de passas; ou esmagadas, para a fabricação de suco ou vinho. É constituída de uma baga de epicarpo membranoso, mesocarpo carnudo, rica em sumo e com pequenas sementes. Fonte de várias vitaminas, a uva também contém minerais como cálcio e fósforo, além de açúcar, cujo teor determina a velocidade do processo de fermentação do vinho. As espécies originais provêm das regiões temperadas do hemisfério norte (CARVALHO; CHITARRA, 1984).

As variedades de uva mais conhecidas em todo o mundo são originárias de cruzamentos que têm em sua base três espécies apenas: a *Vitis vinifera*, *européia*; e as americanas *Vitis labrusca* e *Vitis rotundifolia*. Vulnerável ao ataque de pragas e doenças, a *Vitis vinifera* esteve ameaçada de extinção no século XIX, atacada por um inseto, a filoxera, que destruía as raízes e resistia a todos os produtos químicos então conhecidos. O problema foi solucionado quando se descobriu que o inseto não atacava algumas videiras nativas dos Estados Unidos, como *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* e *Vitis cinerea*, em cujas raízes foi enxertada a *Vitis vinifera* (PEDRO JÚNIOR; SENTELHAS, 2003).

Segundo o Instituto Brasileiro de Frutas, a região Nordeste brasileira destacou-se, em 2009, no cenário nacional pelo cultivo de uvas frescas, o que a diferencia das regiões demais é o direcionamento da produção para o mercado externo, uma vez que mais de 90% da uva de mesa produzida no Nordeste é exportada. Além disso, o Submédio do Vale do São Francisco vem despontando na produção de uvas para vinho e ultimamente de uvas para suco, gerando produtos de alta qualidade com destaque nacional (IBRAF, 2009).

O município de São Vicente Férrer, localizado no Agreste de Pernambuco (Latitude 07° 35' 28" S; Longitude 35° 29' 29" O), se destaca por possuir 90% da sua área agriculturável destinada à viticultura, onde são cultivadas uvas da cultivar Isabel (*Vitis labrusca* L.). A viticultura neste município foi introduzida em 1944 pela família Freire, que trouxe as primeiras mudas para a região. Apesar de estar inserido geograficamente no Agreste, onde predomina um clima mais seco e com menores índices pluviométricos, o município possui características de solo, vegetação e clima semelhantes às da Zona da Mata do estado, com alto índice pluviométrico no inverno e clima ameno durante todo o ano, em função das características climáticas relacionadas a maiores altitudes. Em seu território, o cultivo de uva abrange atualmente uma área equivalente a 400-500 ha com a cultivar Isabel, apresentando duas safras anuais, alcançando uma média anual de 15 mil toneladas. É uma produção pequena, se comparada com a do Vale do São Francisco, que passa de 200 mil toneladas. Mas tem sido de grande importância para a economia local (TAVARES; LIMA, 2009).

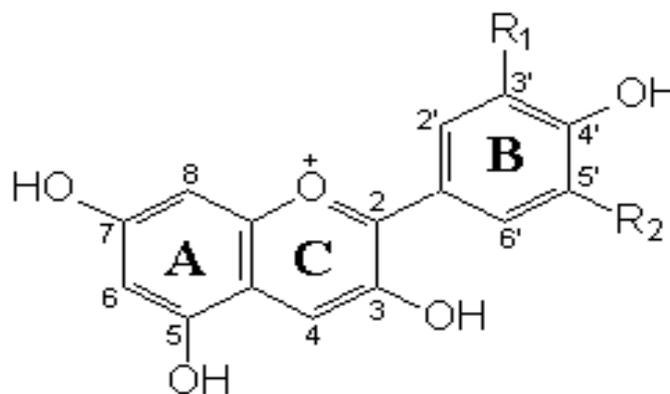
A uva produzida nessa região tem características peculiares devido às condições abióticas locais e à interferência do viticultor na adoção de um sistema de produção familiar. O cultivo é desenvolvido no relevo acidentado, com solos férteis e profundos, e em pequenas propriedades de 0,5 a 12 ha, fator que valoriza a produção e a qualidade da uva (TAVARES; LIMA, 2009).

Segundo Silva (2013), em São Vicente Férrer, as uvas que apresentam um cacho maior são destinadas ao comércio in natura, geralmente nos supermercados da região e dos estados mais próximos. As uvas menores são vendidas para produtores de polpa de fruta congelada de outras cidades, pois São Vicente Férrer ainda não possui indústrias com esta finalidade.

3.2 Antocianinas

As antocianinas são glicosídeos que por hidrólise ácida, liberam agliconas, denominadas de antocianidinas e, dentre as 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 B (Figura 1) (FRANCIS, 1989). Destas antocianidinas, excetuando-se a pelargonidina, todas estão presentes em uvas tintas

Figura 1. Estrutura das seis antocianidinas mais comuns na natureza



Antocianidinas	R ¹	R ²
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OCH ₃	H
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Fonte: adaptado de Rodriguez-Saona e Wrolstad (2001)

As antocianinas apresentam uma estrutura formada por dois anéis aromáticos ligados através de três carbonos, que normalmente formam um heterociclo oxigenado (BRAVO, 1998). Esses pigmentos conferem as várias

nuanças entre laranja, vermelha e azul, exibidas pelas frutas, hortaliças, flores, folhas e raízes (FRANCIS, 1989).

Nas uvas tintas, as antocianinas representam o principal pigmento, sendo sintetizadas a partir do início da maturação e evoluindo até o completo amadurecimento da baga. Normalmente estão presentes na casca e nas primeiras camadas de tecido próximas a ela, podendo também estar presentes na polpa, em algumas cultivares (LIMA; CHOUDHURY, 2007; LIMA, 2009).

A utilização de corantes na indústria de alimentos é uma prática bastante comum, uma vez que a cor e a aparência têm um papel importante na aceitação dos produtos pelo consumidor. Usualmente, na indústria de alimentos utilizam-se corantes de origem sintética. Apesar dos corantes sintéticos apresentarem menores custos de produção, maior estabilidade e capacidade tintorial, o que se constata é que, a respeito dessas vantagens, o número de aditivos sintéticos permitidos nos países desenvolvidos vem diminuindo a cada ano. Assim, alguns corantes sintéticos já estão sendo proibidos pelas legislações de alimentos, inclusive no Brasil. Com base nesses aspectos e devido à necessidade de substituir vários corantes artificiais, a indústria de alimentos recorre cada vez mais a uma série de pigmentos de origem vegetal e animal (LOPES et al., 2007).

Segundo Bridle e Timberlake (1997) as antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal e são estudadas em todo o mundo como responsáveis pelos tons compreendidos desde a coloração vermelha até a coloração azul em muitas frutas, leguminosas e hortaliças. A principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios, pois as antocianinas possuem grupos cromóforos que são bastante sensíveis às alterações de pH do meio. Durante a preparação e processamento dos alimentos, o conteúdo de antocianinas pode decrescer em até 50%, seja durante a lavagem com água devido à sua solubilidade ou pela remoção de porções dos alimentos que sejam ricas em flavonoides (FOSSSEN et al., 1998).

De acordo com Francis (1989), os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas são a estrutura química, o pH, a temperatura, a luz,

a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações com os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos. Segundo estudo realizado por Sarni-Manchado et al. (1996), onde analisaram a estabilidade e cor de pigmentos derivados de antocianinas presentes em vinho tinto, concluíram que a presença de luz implica na perda significativa da cor das antocianinas. Inami et al. (1996) observaram que o conteúdo das antocianinas provenientes do fruto do sabugueiro (*Sambucus nigra*) apresentou muita sensibilidade à altas temperaturas, concluindo que após três horas de exposição ao calor somente 50% do conteúdo de pigmentos foi conservado, à 95°C.

3.3 Compostos bioativos em resíduos agroindustriais

Grande quantidade de resíduos líquidos e sólidos é produzida anualmente pela indústria de processamento de alimentos. Esses resíduos contêm principalmente material orgânico biodegradável e seu descarte proporciona sérios problemas ambientais (MAKRIS et al., 2007). Dentre estas substâncias encontram-se os compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenoides, aos quais são atribuídas propriedades antioxidantes (LUZIA et al., 2010).

Infelizmente, ainda existem poucas alternativas para a utilização da maior parte dos resíduos agroindustriais de origem vegetal, sendo esses dispostos no ambiente, utilizados como fertilizantes orgânicos ou na alimentação animal, sem qualquer tratamento. Porém, a demanda por ração pode variar e depender da produção agrícola, além do problema de descarte desses subprodutos, agravado por restrições legais (SCHIEBER et al., 2001; LAUFENBERG et al., 2003; MELO et al., 2011).

Segundo Laufenberg et al. (2003), os resíduos produzidos pela indústria alimentícia podem conter muitas substâncias de alto valor. Se for empregada uma tecnologia adequada este material pode ser convertido em produtos comerciais ou em matéria-prima para processos secundários ou, ainda, como fonte de ingredientes para novos produtos. Vários materiais vegetais vêm sendo

investigados na perspectiva de identificar e isolar compostos antioxidantes naturais que possam ser empregados na indústria de alimentos em substituição total ou parcial aos antioxidantes sintéticos. Dentre estes materiais estão sementes e cascas de vegetais uma vez que apresentam em sua constituição elevado teor de fitoquímicos com propriedade antioxidante (GUO et al., 2003).

Nesse contexto, Balasundram et al. (2006) em artigo de revisão sobre a presença de compostos fenólicos em alimentos de origem vegetal e em resíduos agroindustriais concluíram que esses resíduos são boas fontes de compostos fenólicos e que podem ser explorados como fonte de antioxidantes naturais. Makris et al. (2007) avaliaram a concentração de polifenóis e as características antioxidantes de vários tipos de resíduos sólidos agroalimentares e concluíram que os resíduos vinícolas contêm quantidade bastante elevadas de polifenóis antioxidantes.

Sánchez et al., em 2010, analisaram o potencial antioxidante de resíduos agroindustriais de três frutas de alto consumo na região de Tolima, na Colômbia e relataram uma forte associação entre o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante expressa por cada um dos materiais estudados. Melo et al. (2011), analisando a composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais (bagaços de uva tinta, uva branca e goiaba) concluíram que esses resíduos, principalmente os vinícolas, são ricos em compostos bioativos, como os compostos fenólicos, e que por apresentar atividade antioxidante, podem ser potenciais fontes naturais de substâncias bioativas para aplicação na indústria de alimentos.

Soares et al. (2008), pesquisando teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca de uvas niágara e Isabel utilizando diferentes concentrações de acetona como solvente extrator, encontraram elevado teor de fenólicos totais. Sousa e Vieira (2011) quantificaram em diferentes resíduos de frutas tropicais elevados teores de fenólicos totais. Todos os extratos dos resíduos pesquisados exibiram ação antioxidante, com destaque para os extratos do resíduo de acerola e de goiaba, os quais se mostraram mais eficientes em sequestrar os radicais livres DPPH[•] e ABTS^{•+}. Sendo assim, os resíduos de frutas podem ser apontados como fontes promissoras de antioxidantes naturais.

3.4 Antioxidantes e a indústria de alimentos

Os antioxidantes agem retardando ou prevenindo a oxidação de substratos, uma vez que se envolvem nos processos oxidativos impedindo a formação de radicais livres. Estes substratos podem ser lipídios, proteínas, DNA e carboidratos, que, ao oxidarem, sofrem rupturas nas membranas, liberando conteúdos celulares e levando à degeneração não programada (HALLIWEL et al., 1995; HU et al., 2004).

Geralmente, os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular está correlacionado com o seu sítio de formação. Estes compostos são classificados como moléculas orgânicas, inorgânicas ou átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, tendo estas moléculas existências independentes. Esse tipo de estrutura faz com que os radicais livres sejam moléculas de alta instabilidade, apresentando meia-vida curta e sendo muito reativos. Entre as principais formas reativas do oxigênio, o O_2^{\cdot} (radical superóxido) mostra uma baixa atividade de oxidação, enquanto o OH^{\cdot} (radical hidroxila) é o mais reativo em relação às lesões celulares, apesar da pequena atividade de difusão (CRAFT et al., 2012).

A maneira própria e efetiva da utilização do antioxidante depende do conhecimento de sua química, do modo de ação e de sua função no alimento. Além da relação estrutura função, existem diversos fatores como: a natureza do lipídio, o estado físico do alimento, as condições de armazenamento e a atividade da água que ditam a eficiência dos vários tipos de antioxidantes (ARAÚJO, 2011). Butil hidroxitolueno (BHT), butil hidroxianisol (BHA), terc-butil-hidroxi-quinona (TBHQ), tri-hidroxi-butil-fenona (THBP) e propil galato (PG) são os antioxidantes sintéticos usualmente empregados pela indústria. A legislação de alimentos no Brasil, estabelece que os antioxidantes devem ser adicionados aos alimentos nas seguintes proporções: em torno de 0,01% em relação à gordura do alimento e de 0,025% quando se utiliza uma mistura de antioxidantes na qual nenhum dos componentes deve ultrapassar 0,01%. Também estabelece que estes aditivos não devem causar efeitos fisiológicos negativos, produzir cores, odores nem sabor anômalos, ser compatível com a composição do alimento, serem eficazes em

baixas temperaturas, e resistentes aos tratamentos a que seja submetido o alimento (BRASIL, 2010; ROGINSKY; LISSI, 2005).

Entretanto, a inocuidade destes aditivos vem sendo questionada, e com isto a busca por antioxidantes naturais tem sido estimulada, e os consumidores, por sua vez, que estão preocupados com a saúde, vêm demonstrando interesse por produtos naturais (PESCHEL et al., 2006).

Diversos fatores influenciam a atividade antioxidante, incluindo as propriedades coloidais dos substratos, as condições e etapas de oxidação, a formação e estabilidade dos radicais, assim como a possível localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento de alimentos (ROCKENBACH et al., 2008).

Atualmente, tem se dado ênfase à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante oriundos de fontes naturais, como os vegetais, assim como o resíduo proveniente dos mesmos, de forma a prevenir a deterioração oxidativa e restringir a utilização dos antioxidantes sintéticos. Estas fontes naturais contêm substâncias antioxidantes distintas, cuja atividade tem sido comprovada nos últimos anos. A presença de compostos fenólicos, tais como os flavonoides, ácidos fenólicos e antocianinas, além das vitaminas C e E e de carotenoides contribuem para os efeitos benéficos que estes alimentos proporcionam (SHAHIDI et al., 2007).

A propriedade antioxidante das antocianinas vem sendo estudada por diversos pesquisadores, face à sua presença em um significativo número de alimentos de origem vegetal e pela diversidade de sua estrutura química (GARZÓN et al., 2009; CERESO et al., 2010; HOGAN et al., 2010; LIMA et al., 2011; YUAN et al., 2011; LI et al., 2012; MURTHY et al., 2012; PITIJA et al., 2013; CUI et al., 2013).

Dentre estes alimentos de origem vegetal, os derivados de uva estão entre os produtos com grande apelo funcional. Entre os principais compostos que lhe conferem esta propriedade estão os compostos fenólicos, tanto do grupo dos flavonoides (antocianinas, flavonóis, flavanóis e proantocianidinas) quanto dos

não flavonoides, como o resveratrol e ácidos fenólicos. A atividade antioxidante está principalmente relacionada com o conteúdo de polifenóis totais e antocianinas nas cascas de uva. As antocianinas são consideradas excelentes antioxidantes por doarem hidrogênio aos radicais livres altamente reativos, prevenindo a formação de novos radicais (SOARES et al., 2008; ZAFRA-STONE et al., 2007; MAZZA et al., 2002).

REFERÊNCIAS

ARAMWIT, P.; BANG, N.; SRICHANA, T. The properties and stability of anthocyanins in mulberry fruits. **Food Research International**, v.43, n.4, p.1093-1097, 2010.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. **Food Chemistry**, v.99, n.1, p.191-203, 2006.

BARROS, J. C. S. M.; FERRI, C. P.; OKAWA H. N. Qualidade da uva fina de mesa comercializada na Ceasa de Campinas. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.25, n.7, p.53-61, 1995.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 45, de 03 de novembro de 2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo Boas Práticas de Fabricação (BPF). **ANVISA Publicações Eletrônicas**, 2010.

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

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v.40, n.6, p.1809-1812, 1997.

CARVALHO, V. D.; CHITARRA, M. I. F. Aspectos qualitativos da uva. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.117, p.75-79, 1984.

CAYUELA, M. L.; MILLNER, P. D.; MEYER, S. L. F.; ROIG, A. Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi, and nematodes. **Science of the Total Environment**, v. 399, p.11-18, 2008.

CEREZO, A. B.; CUEVAS, E.; WINTERHALTER, P.; GARCIA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Isolation, identification, and antioxidant activity of anthocyanin compounds in Camarosa strawberry. **Food Chemistry**, v.123, p.574-582, 2010.

CLEMENTE, E.; GALLI, D. Stability of the anthocyanins extracted from residues of the wine industry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 765-768, 2011.

CRAFT, B. D.; ADRIAN, L. K.; AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Phenol-Based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, p.148-173, 2012.

CUI, C.; ZHANG, S.; YOU, L.; REN, J.; LUO, W.; CHEN, W.; ZHAO, M. Antioxidant capacity of anthocyanins from *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) and identification of the major anthocyanins. **Food Chemistry**, v.139, p.1-8, 2013.

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

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A.; ALMELA, L.; MUÑOZ, J. A.; HIDALGO, V.; CARREÑO, J. Dependence between colour and individual anthocyanin content in ripening grapes. **Food Research International**, v.31, n.9, p.667-672, 1998.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **FAOSTAT**. Disponível em <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 10 jun. 2014.

FOSSÉN, T.; CABRITA, L.; ANDERSEN, O. M. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. **Food Chemistry**, v.36, n.4, p. 435-440, 1998.

FLORES, C. A.; MANDELLI, F.; FALCADE, I.; TONIETTO, J.; SALTON, M. A.; ZANUS, M. C. Vinhos de Pinto Bandeira: características de identidade regional para uma indicação geográfica. **Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinhos**, 2005. 11p.

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

GARZÓN, G. A.; RIEDL, K. M.; SCHWARTZ, S. J. Determination of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth). **Journal of Food Science**, v.74, n.3, p.C227- C232, 2009.

GIOIA, D. D.; SCIUBBA, L.; SETTI, L.; LUZIATELLI, F.; RUZZI, M.; ZANICHELLI, D.; FAVA, F. Production of biovanillin from wheat bran. **Enzyme and Microbial Technology**, v.41, N.4, p.498-505, 2007.

GOMES, J. A. F.; LEITE, E. R.; CAVALCANTE, A. C. R.; CÂNDIDO, M. J. D.; LEMPP, B.; BOMFIM, M. A. D.; ROGÉRIO, M. C. P. Resíduo agroindustrial da carnaúba como fonte de volumoso para a terminação de ovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.1, p.58-67, 2009.

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, p.1719-1726, 2003.

HALLIWEL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; ARUOMA, O. I. The characterization of antioxidants. **Food Chemistry and Toxicology**, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HOGAN S.; CHUUNG, H.; ZHANG, L.; LI, JIANRONG.; LEE, Y.; DAI, Y.; ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Food Chemistry**, v. 118, p.208–214, 2010.

HU, C. C.; HSIAO, C. H.; HUANG, S. Y.; FU, S. H.; LAI, C. C.; HONG, T. M.; CHEN, H. H.; LU, F. J. Antioxidant activity of fermented soybean extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.12, p.5735-5739, 2004.

HUBER, K.; QUEIROZ, J. H.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R. Caracterização química do resíduo agroindustrial da manga ubá (*Mangifera indica* L.): uma perspectiva para a obtenção de antioxidantes naturais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.6, n.1, p.640-654, 2012.

INAMI, O.; TAMURA, I.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Stability of anthocyanins of *Sambucus canadensis* and *Sambucus nigra*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, n.10, p.3090-3096, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS (IBRAF), 2009. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp>. Acesso em: 16 jun. 2014.

LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. **Bioresource Technology**, v.87, n.2, p.167-198, 2003.

LI, H.; DENG, Z.; ZHU, H.; HU, C.; LIU, R.; YOUNG, C.; TSAO, R. Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. **Food Research International**, v.46, p.250-259, 2012.

LIMA, M. A. C. Fisiologia, tecnologia e manejo pós-colheita. In: SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. S. (Eds.) **A vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, 2009, p.597-656.

LIMA, M. A. C.; CHOUDHURY, M. M. Características dos cachos de uva. In: LIMA, M. A. C. (Ed.). **Uva de mesa: pós-colheita**. 2ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido, 2007, p.21-30.

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

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; PINHEIRO, I. O.; GUERRA, N. B. Antioxidant capacity of anthocyanins from acerola genotypes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.1, p.86-92, 2011.

LOPES, T.J.; XAVIER, M.; QUADRI, M.G.; QUADRI, M. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.3, p.291-297, 2007.

LUZIA, D. M. M.; BERTANHA, B. J.; JORGE, N. Sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): potencial antioxidante e perfil de ácidos graxos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. 69 (2) p. 175-18, 2010.

MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; NIKOLAOS, K. A. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, n.2, p.125-132, 2007.

MAZZA, G.; KAY, C. D.; COTTREL, T.; HOLUB, B. J. Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.26, p.7731-7737, 2002.

MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, T. L. C.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.1088-1093, 2011.

MURTHY, P. S.; MANJUNATHA, M. R.; SULOCHANNAMA, G.; MADHAVANNAIDU, M. Extraction, Characterization and Bioactivity of Coffee Anthocyanins. **European Journal of Biological Sciences**, v.4, n.1, p.13-19, 2012.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A. BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S.; Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v.32n. 3, p. 689-702,2009.

PARAWIRA, W.; READ, J. S.; MATTIASSON, B.; BJORNSSON, L. Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot stage anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**, v.32, p.44-50, 2008.

PEDRO JÚNIOR, M. J.; SENTELHAS, P. C. Clima e produção. In: POMMER, C. V (Ed.) **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. Cap.3, p.63-107.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v3., n.4, p.146-152, 2012.

PESCHEL, W.; SANCHÉZ-RABANEDA, F.; DIEKMAN, W.; PLESCHER, A.; GARTZIA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v.97, n.1, p.137-150, 2006.

PITIJA, K.; NAKORNRIAB, M.; SRISEADKA, T.; VAMAVICHIT, A.; WONGPORNCHAI, S. Anthocyanin content and antioxidant capacity in bran extracts of some Thai black rice varieties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.48, p.300-308, 2013.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p.238-244, 2008.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant in food. **Food Chemistry**, v.92, n.2, p.235-254, 2005.

SÁNCHEZ, W. F.; MURILLO, E.; MÉNDEZ, J. J. Potencial antioxidante de residuos agroindustriales de tres frutas de alto consume en el Tolima. **Scientia et Technica**, Ano XVII, n. 46, p. 138-143, 2010.

SARNI-MANCHADO, P. S.; FULCRAND, H.; SOUQUET, J. M.; CHEYNIÉS, V.; MOUTONET, M. Stability and color unreported wine anthocyanin-derived pigments. **Journal of Food Science**, v.61, n.5, p.938-941, 1996.

SARI, P.; WIJAYA, C. H.; SAJUTHI, D.; SUPRATMAN, U. Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. **Food Chemistry**, v.132, n.4, p.1908-1914, 2012.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v.12, n.11, p.401-413, 2001.

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PATHIRANA, C. M. Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Byproducts. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.55, n.4, p.1212-1220, 2007.

SILVA, N. N. A. **Fenologia, biologia reprodutiva e exigência térmica da uva “Isabel” (*Vitis labrusca* L., Vitaceae) e a influência da vegetação nativa na polinização e na produção de frutos**. 2013. 81p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 2013.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria* ssp.). **Alimentos & Nutrição**, v.21, n.3, p.429-436, 2010.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; VALENTÃO, P.; FERRERES, F.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Fruit (Pulp, Peel and Seed) and Jam: antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.15, p.4705-4712, 2004.

SMART, R. E. Principle of grapevine canopy management microclimate with implications for yield and quality. A review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.336, n.3, p.230-239, 1985.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.1, p.59-64, 2008.

SOARES, M. C.; RIBEIRO, E. T.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L. V.; LIMA, A.; FILHO, J. M.; FETT, R. Composição do conteúdo de ácidos fenólicos no bagaço de maçã (*Malus* sp). **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 339-348, 2008.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 202-210, 2011.

TAVARES, S. C. C. H.; LIMA, V. C. **A indicação geográfica da uva de São Vicente Férrer e Macaparana – PE a partir de pesquisas da Embrapa.** EMBRAPA: Circular técnica 43, Rio de Janeiro – RJ, 2009.

TORRES, J. B.; VARELA, B.; GARCIA, M. T.; CARILLA, A. J.; MATITO, C.; CENTELLES, J. J.; CASCANTE, M.; SORT, X.; BOBET, R. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.26, p.7548-7555, 2002.

VERBEYST, L.; OEY, I.; PLANCKEN, I.V.; HENDRICKX, LOEY, A.V. Kinetic study on the thermal and pressure degradation of anthocyanins in strawberries. **Food Chemistry**, v. 123, n. 2, p. 269-274, 2010.

WICKLUND, T.; ROSENFELD, H.J.; MARTINSEN, B.K.; SUNDFOR, M.W.; LEA, P.; BRUUN, T.; BLOMHOFF, R.; HAFFNER, K. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. **LWT – Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.38, n.4, p.387-391, 2005.

YUAN, W.; ZHOU, L.; DENG, G.; WANG, P.; CREECH, D.; LI, S. Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity of *Vaccinium* L. in Texas, USA. **Pharmaceutical Crops**, v. 2, p. 11-23, 2011.

ZAFRA-STONE, S.; YASMIN, T.; MANASHI, B.; CHATTERJEE, A.; VINSON, J. A.; BAGCHI, D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.51, n.6, p.675-683, 2007.

CAPÍTULO I

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS PURIFICADAS DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE POLPA CONGELADA DE UVA ISABEL

RESUMO

O crescimento da fruticultura irrigada e o incremento de novas tecnologias vêm estimulando a expansão das agroindústrias processadoras de frutas, o que gera grande volume de resíduos que descartados em locais inadequados representam sério problema de contaminação ambiental. No entanto, estes resíduos podem apresentar grande potencial, pois além de possuírem açúcares, vitaminas, sais minerais e fibras ainda apresentam teores significantes de compostos bioativos. Portanto, essa pesquisa teve como objetivo quantificar e purificar as antocianinas extraídas do resíduo de uva e determinar sua atividade antioxidante. O resíduo foi cedido por uma unidade processadora de polpa congelada, cujas uvas da cultivar Isabel (*Vitis labrusca* L.) foram provenientes do município de São Vicente Férrer – PE. O teor de antocianinas foi quantificado pelo método de pH diferencial e sua purificação, utilizando cartuchos C₁₈, promoveu a remoção de açúcares, ácidos e compostos fenólicos não antociânicos. A atividade antioxidante das antocianinas purificadas foi avaliada pela capacidade de sequestrar os radicais DPPH[•] (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfônico), tendo o ácido gálico como composto de referência. O teor de antocianinas totais no resíduo de uva foi de 15,56 ± 0,33 mg 100g⁻¹. As antocianinas purificadas apresentaram boa eficiência frente ao radical DPPH[•] (EC₅₀ de 0,14 ± 0,01 g. g DPPH⁻¹ e T_{EC50} < 5 minutos) e capacidade de sequestro superior a 80%. Frente ao radical ABTS^{•+} as antocianinas apresentaram capacidade de sequestro de 241,36 ± 3,74 μmol TEAC.g⁻¹ de amostra. Estes resultados evidenciam que o resíduo proveniente da indústria de polpa congelada de uva pode ser considerado como uma boa fonte de antocianinas, com potencial para ser utilizada como antioxidante natural no desenvolvimento de novos produtos alimentícios, além de proporcionar diminuição da quantidade desses resíduos sólidos a serem descartados no meio ambiente.

Palavras-chave: *Vitis labrusca* L., DPPH[•], ABTS^{•+}.

ABSTRACT

The growth of irrigated fruit and the increase of new technologies has stimulated the expansion of agro processing fruit, which generates large volume of waste disposed of in inappropriate places represent serious problem of environmental contamination. However, this waste can has great potential, because besides having sugars, vitamins, minerals and fibers still significant levels of bioactive compounds. Therefore, this study aimed to quantify and purify the extracted anthocyanins from grape residue and determine its antioxidant activity. The residue was transferred by a processing unit of frozen pulp, whose grapes cultivar Isabel (*Vitis labrusca* L.) came from the city of São Vicente Férrer - PE. The anthocyanin content was quantified by differential pH method and its purification using C₁₈ cartridges promoted the removal of sugars, acids and not anthocyanin phenolic compounds. The antioxidant activity of the purified anthocyanins was assessed by the ability to scavenge DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), with gallic acid as reference compound. The total anthocyanin content in grape residue was 15.56 ± 0.33 mg 100g⁻¹. Anthocyanins purified showed good efficiency against the radical DPPH[•] (EC₅₀ of 0.14 ± 0.01 g. g DPPH^{•-1} and T_{EC50} < 5 minutes) and strong ability to sequester (>80%). Against the radical ABTS^{•+} anthocyanins showed sequestration capacity of 241.36 ± 3.74 μmol TEAC.g⁻¹ sample. These results indicate that the residue from grape frozen pulp industry can be considered as a good source of anthocyanins, have the potential to be used as a natural antioxidant in the development of new food products, and provide reduction of the quantity of these solids to be discarded in the environment.

Key Words: *Vitis labrusca* L., DPPH[•], ABTS^{•+}.

INTRODUÇÃO

Por ser um país de elevada atividade agrícola, o Brasil é um dos que mais produzem resíduos agroindustriais, porém a busca por alternativas para utilização da matéria orgânica gerada vem crescendo nos últimos anos. Produtores e indústrias da área vitícola enfrentam problemas de descarte de biomassa residual, que embora seja biodegradável, necessita de um tempo mínimo para ser mineralizada, constituindo-se então de uma fonte de poluentes ambientais. Esses resíduos agroindustriais contêm uma variedade de compostos biologicamente ativos que são geralmente desperdiçados (TORRES et al., 2002).

As antocianinas são flavonoides que se encontram largamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e quase todas as tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules, raízes de plantas, entre outros (VINSON et al., 1999). Nas videiras, as antocianinas se acumulam nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas tintas, sendo encontradas também na polpa de algumas variedades de uvas. O conteúdo de antocianinas presentes nas uvas depende de alguns fatores, tais como espécie, maturidade, condições climáticas do local e cultivares (RENAUD; DE LORGERIL, 1992; MAZZA, 1995).

Estudos têm mostrado a propriedade antioxidante das antocianinas. A sua ação pode chegar a ser duas vezes maior que a dos antioxidantes disponíveis comercialmente como, por exemplo, a (+)-catequina e a vitamina E, podendo, também, apresentar melhor ação antioxidante do que a do butil hidroxianisol (BHA) e o butil hidroxitolueno (BHT) (ESPÍN, et al., 2000). Além disso, as antocianinas, por serem fortemente polares, podem substituir os antioxidantes lipofílicos como, por exemplo, a vitamina E (RAMIREZ-TORTOZA et al., 2001).

A uva tinta é uma boa fonte de compostos fenólicos, com destaque para as antocianinas que, por encontrarem-se principalmente nas cascas, permanecem nos resíduos ou subprodutos do seu processamento (ALONSO et al., 2002). Estas constatações motivaram o desenvolvimento deste trabalho, como objetivode quantificar o teor de antocianinas em resíduo resultante do

processamento da polpa de uva congelada, e avaliar a sua capacidade antioxidante.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O resíduo de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) foi cedido por uma unidade processadora de polpa congelada localizada em Recife – PE, que recebe uvas provenientes de uma plantação do município de São Vicente Férrer - PE (Latitude -07° 35' 28" S; Longitude -35° 29' 29" O). A cidade apresenta duas safras anuais de uva Isabel, sendo o resíduo utilizado, proveniente da primeira safra anual, que ocorreu no mês de Fevereiro de 2014. Este resíduo foi acondicionado em sacos de polietileno de baixa densidade e transportado, em caixa isotérmica, ao Laboratório de Análises Físico-Químicas de Alimentos (LAFQA), do Departamento de Ciências Domésticas (DCD), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde foi imediatamente armazenado sob congelamento ($-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$) para ser utilizado nos experimentos.

Métodos

Extração das antocianinas

As antocianinas do resíduo de polpa congelada de uva foram extraídas conforme metodologia descrita por Rodriguez-Saona e Wrolstad (2001), modificada por utilizar acetona P.A. acidificada (0,01% HCl). Após a filtração, o procedimento de extração foi repetido até a completa remoção dos pigmentos. Em seguida, o volume do filtrado foi quantificado e transferido para um funil de separação, ao qual foi adicionado o dobro do volume de clorofórmio e estocado durante uma noite a 4°C para ocorrer a separação das fases. A fase superior (aquosa) foi levada ao evaporador rotativo a temperatura entre $38^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 10 a 15 minutos para remoção da acetona residual. O extrato aquoso foi estocado a $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para ser utilizado nas etapas posteriores. Todos os procedimentos foram realizados em condições de reduzida incidência de luz.

Determinação do teor de antocianinas totais

O teor de antocianinas foi quantificado utilizando o método de pH diferencial (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005), onde o extrato aquoso foi apropriadamente diluído em duas soluções tampão; cloreto de potássio 0,025 M, pH 1 e acetato de sódio 0,4 M, pH 4,5. Após 15 minutos de repouso, foram efetuadas medidas de absorvância nos comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm, em espectrofotômetro (Shimadzu UV – 1650PC). O teor de antocianinas foi calculado considerando a absorvidade molar (ϵ) de 28000 L.cm⁻¹.mol⁻¹ e o peso molecular (MW) de 493,2 g.mol⁻¹, ambos correspondentes à malvidina 3-glicosídeo, antocianina presente em maior quantidade em uvas (equação 1) (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

$$\text{Antocianinas monoméricas} = A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100 / \epsilon \times 1 \quad (1)$$

Onde: $A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$; PM = peso molecular; FD= fator de diluição; ϵ = absorvidade molar.

Purificação das antocianinas

As antocianinas foram purificadas por extração em fase sólida (SPE, solid phase extraction), utilizando cartuchos C₁₈ (Allthec Associates, Deerfield, IL) segundo metodologia descrita por Rodriguez-Saona; Wrolstad (2001), onde houve a remoção dos ácidos, dos açúcares e dos compostos fenólicos não-antociânicos. Após a purificação, o extrato metanólico obtido contendo as antocianinas foi concentrado à vácuo até a obtenção de um resíduo seco ao qual foi adicionado éter dietílico com a finalidade de precipitar os pigmentos (ESPÍN et al., 2000). As antocianinas em pó obtidas foram armazenadas sob congelamento (-18°C ± 1°C) até o momento das análises.

Avaliação da capacidade antioxidante

Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH[•])

A capacidade das antocianinas purificadas de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH[•]) foi determinada utilizando o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Sanchez-Moreno et al. (1998). Neste método, a redução do DPPH[•] pelo composto antioxidante resulta na perda de absorvância e, o grau de descoloração da solução, indica a eficácia do composto testado. Diferentes concentrações das antocianinas purificadas foram adicionadas à solução de DPPH[•] em metanol (0,1 M), de modo a atingir concentrações finais de 7,5; 15 e 30 µg de antocianinas mL⁻¹, e a absorvância a 517 nm, foi registrada em espectrofotômetro (Shimadzu UV – 1650PC), até a reação atingir o platô. A capacidade de sequestrar o radical DPPH[•] foi expressa em percentual, calculada em relação ao controle (sem antioxidante). O percentual de DPPH[•] remanescente (DPPH_{REM}%) de cada concentração de antocianinas foi calculado utilizando curva padrão do radical DPPH[•] e a equação 2:

$$\%DPPH_{REM} = DPPH_t / DPPH_T \times 100 \quad (2)$$

Onde: DPPH_t= concentração do radical DPPH[•] no tempo em que a reação atingiu o platô; DPPH_T= concentração inicial do radical DPPH[•] (tempo 0 da reação).

A concentração de antocianinas capaz de diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH[•] (EC₅₀) foi calculada a partir do gráfico da concentração de antocianinas (g antocianinas. g de DPPH^{•-1}) versus DPPH_{REM}%. O resultado foi expresso em g de antocianinas. g de DPPH^{•-1}. A eficiência antirradical (EA) foi calculada considerando o valor de EC₅₀ e o tempo em que foi atingido o EC₅₀ (T_{EC50}), conforme a equação 3:

$$EA = 1/EC_{50} \cdot T_{EC50} \quad (3)$$

De acordo com o valor do T_{EC50} , o comportamento cinético das antocianinas pode ser classificado como rápido ($T_{EC50} < 5$ minutos), intermediário ($T_{EC50} = 5$ a 30 minutos) ou lento ($T_{EC50} > 30$ minutos), e conforme o valor da eficiência antirradical (EA) pode ser classificada como baixa ($EA < 1$), média ($EA > 1$ e ≤ 5), alta ($EA > 5$ e ≤ 10) ou super alta ($EA > 10$) (SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998).

Capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+}

A capacidade de sequestrar o radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS^{•+}) foi determinada segundo o método descrito por RE et al. (1999). O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS^{•+} (7 mM) com 2,45 mM de persulfato de potássio. A solução do radical foi diluída em etanol até obter-se uma medida de absorvância de $0,7 \pm 0,005$, em comprimento de onda de 734 nm. Diferentes concentrações de antocianinas diluídas em etanol foram adicionadas à solução de ABTS^{•+}, atingindo as concentrações finais de 0,5; 1 e 2 μg de antocianinas. mL^{-1} . A absorvância foi registrada, após os 6 minutos de reação, em espectrofotômetro (Shimadzu UV – 1650PC). A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$).

Análise estatística

O experimento foi instalado segundo delineamento experimental inteiramente ao acaso. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e as médias dos valores encontrados, submetidas ao Teste t de Student ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico “Statistica” (versão 7, StatSoft, Inc., Tulsa, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antocianinas Totais

O teor de antocianinas totais encontrado no resíduo agroindustrial de uva variou de 15,30 a 15,94 mg em equivalente de malvidina 3-glicosídeo 100g⁻¹ de resíduo fresco, apresentando uma média de 15,56 ± 0,33 mg em equivalente de malvidina-3-glicosídeo 100g⁻¹ de resíduo fresco (Tabela 1). Em polpa congelada de uva, Kuskoski et al. (2006) encontraram um teor de antocianinas totais de 30,9 mg 100g⁻¹. Assim, o valor de antocianinas encontrado no resíduo utilizado no presente trabalho é bastante significativo e constitui uma boa fonte desses pigmentos.

Tabela 1. Teor de antocianinas totais em resíduo proveniente da indústria de polpa congelada de uva (*Vitis labrusca* L.)

Ensaio	Antocianinas totais (mg 100g ⁻¹)*
I	15,45
II	15,94
III	15,30
MÉDIA ± D.P**	15,56 ± 0,33

*Expresso em malvidina 3-glicosídeo. **Os valores referem-se à média da triplicata ± desvio padrão.

Segundo Oliveira et al. (2013), o bagaço de uva apresenta diferentes concentrações de componentes antioxidantes, naturalmente presentes no fruto, em função do processamento ao qual foi submetido e da variedade da uva. Tradicionalmente, soluções acidificadas de metanol, etanol, acetona, água, bem como mistura de acetona/metanol/água têm sido usadas para a extração de antocianinas (JU; HOWARD, 2003). Entretanto, de acordo com Rodriguez-Saona; Wrolstad (2001), a acetona apresenta-se mais eficaz em extrair antocianinas, pois, quando comparada com o metanol, a capacidade de recuperação das antocianinas é de 30% ou mais. Assim, evidencia-se que o tipo de solvente empregado na extração desses pigmentos influencia na sua quantificação.

Além dos fatores acima citados é preciso considerar o teor de água na matéria prima tendo em vista que muitas pesquisas referem a quantidades variadas de antocianinas em uvas. O resíduo utilizado no presente estudo apresentou um teor de umidade de $89,12\% \pm 0,84$, o que demonstra ser um material com elevado teor de água. Clemente e Galli (2011), quantificaram em resíduo de uva (base úmida), provenientes do processo de vinificação, um teor médio de antocianinas de $26,20 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Como consequência da desidratação, valores mais elevados de antocianinas podem ser encontrados. Em bagaço liofilizado de uva de diferentes variedades cultivadas na Itália, procedente de vinícolas após 5 a 8 dias de maceração, Ruberto et al. (2007) relataram valores entre 3,75 a $45,27 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de extrato metanólico. Em outro estudo, utilizando resíduo de uva da variedade Cabernet Franc, proveniente do processo de vinificação, Oliveira et al., (2013) encontraram teor de antocianinas totais de $71,77 \text{ mg}$ em equivalente de cianidina-3-glicosídeo. 100g^{-1} . Soares et al. (2008), ao avaliar o teor de antocianinas totais presentes em casca liofilizadas de uvas Niágara e Isabel relataram valores de 7,02 e $82,15 \text{ mg}$ em equivalente de cianidina-3-glicosídeo. 100g^{-1} , respectivamente. Utilizando resíduos liofilizados de diferentes uvas das cultivares *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L., Abe et al. (2007) determinaram teor de antocianinas totais que variou entre 12,8 e 248 mg em equivalente de cianidina-3-glicosídeo. 100g^{-1} . Nesse caso, as antocianinas encontravam-se significativamente em maior concentração no resíduo de uvas tintas de coloração mais escura em comparação com o das uvas rosadas.

Potencial Antioxidante

Os frutos apresentam, além dos nutrientes essenciais e de micronutrientes como minerais, fibras e vitaminas, diversos compostos secundários de natureza fenólica, os polifenóis. Estes compostos fenólicos, especialmente os flavonoides demonstram atividade antioxidante, ou seja, a capacidade de sequestrar radicais livres (HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

A atividade antioxidante pode depender de vários fatores, como as condições e etapas de oxidação, a formação e estabilidade dos radicais, assim como a possível localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento nos alimentos (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

Segundo Brand-Williams et al. (1995), o valor de EC_{50} é inversamente proporcional à atividade antioxidante. Assim, quanto maior for o valor de EC_{50} menor será a capacidade antioxidante da amostra. Desta forma, evidencia-se na Tabela 2 que as antocianinas purificadas do resíduo de uva são eficientes em sequestrar o radical DPPH^{*}, pois, comparando com ácido gálico, composto antioxidante amplamente utilizado como padrão, não houve diferença significativa entre os valores encontrados ($p > 0,05$).

Tabela 2. Valores do EC_{50} , $T_{EC_{50}}$ e classificação cinética e antirradical de antocianinas purificadas do resíduo de polpa congelada de uva e do ácido gálico

Ensaio	EC_{50} (g. g DPPH ⁻¹)	$T_{EC_{50}}$ (min)	Classificação cinética	EA	Classificação antirradical
ACY	0,14 ± 0,01	0,87* ± 0,02	Rápido	8,21* ± 0,16	Alta
Ácido Gálico	0,14 ± 0,01	0,54 ± 0,01	Rápido	13,30 ± 0,14	Super alta

Os valores referem-se à média de três determinações ± desvio padrão.

(*) valores diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student. EC_{50} = concentração da amostra eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH^{*}; $T_{EC_{50}}$ = tempo necessário para atingir o valor de EC_{50} ; EA = eficiência antirradical ($1/ EC_{50}$. $T_{EC_{50}}$). ACY: antocianinas

Cui et al. (2013) evidenciaram que o EC_{50} das antocianinas purificadas de fruto de cor roxo escuro de um arbusto nativo do sudeste da Ásia (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) foi significativamente superior (6,27 µg/ml DPPH^{*}) ao do ácido ascórbico (17,4 µg/ml DPPH^{*}), utilizado como composto de referência. Zhang; Fu; Zang (2011) analisando as antocianinas purificadas provenientes de

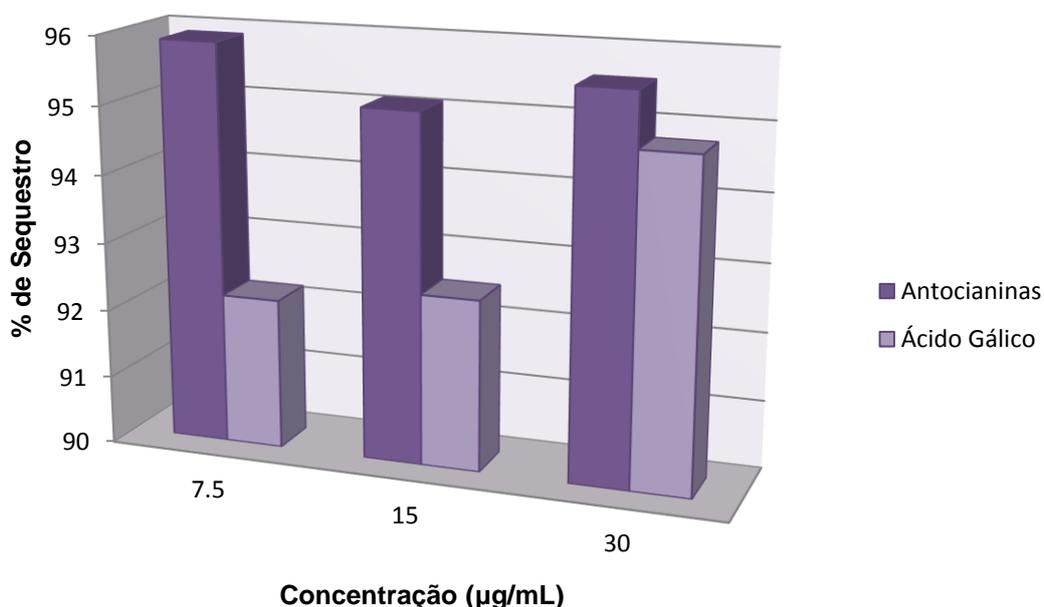
flores de romã em relação à capacidade de sequestrar o radical DPPH^{*}, encontraram valores de EC₅₀ de 19,56 a 23,62 µg.ml⁻¹ DPPH^{*}, concluindo que as antocianinas apresentaram forte ação antioxidante. Convertendo a unidade do EC₅₀ das antocianinas purificadas utilizadas no presente estudo, obtém-se um valor de 4,91 µg.ml⁻¹ DPPH^{*}, que quando comparado aos valores encontrados por Cui et al. (2013) e Zhang, Fu e Zang (2011), conclui-se que as antocianinas purificadas nesse estudo foram significativamente mais eficientes.

A análise do comportamento cinético revelou que as antocianinas atuaram rapidamente no sequestro do radical DPPH^{*} (T_{EC50} = 0,87 min). Embora o ácido gálico (T_{EC50} = 0,54 min) tenha sido significativamente mais rápido do que as antocianinas (p > 0,05), o comportamento cinético de ambos pode ser visto como rápido, uma vez que para Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998), o comportamento cinético é considerado “rápido” quando o tempo necessário para atingir o valor de EC₅₀ é inferior a 5 min (T_{EC50} < 5 minutos) (Tabela 2).

A capacidade de sequestro do radical DPPH^{*} das diferentes concentrações de antocianinas, expressa em percentual de sequestro, encontra-se na Figura 1. As antocianinas nas concentrações de 7,5; 15 e 30 µg.mL⁻¹ apresentaram em média, percentuais de sequestro de 95,89; 95,1 e 95,58%, respectivamente, enquanto que o ácido gálico, nas mesmas concentrações, foi de 92,21; 92,41 e 94,78%.

O percentual de sequestro das antocianinas do resíduo de uva foi semelhante ao de *Rhodomyrtus tomentosa* (> 90%) relatado por Cui et al. (2013). Observa-se que a capacidade de sequestro das antocianinas bem como do ácido gálico, em todas as concentrações, foi superior a 80%. De acordo com a classificação estabelecida por Melo et al. (2008), a capacidade de sequestro pode ser considerada forte quando o percentual de sequestro atingir valores acima de 70%, moderada entre 70 e 50% e fraca abaixo de 50%. Desta forma, constata-se que a capacidade de sequestro do radical DPPH^{*} das antocianinas e do ácido gálico pode ser considerada forte.

Figura 1. Capacidade de sequestro do radical DPPH[•] (%) das antocianinas provenientes do resíduo de polpa congelada de uva e do ácido gálico aos 5 minutos de reação



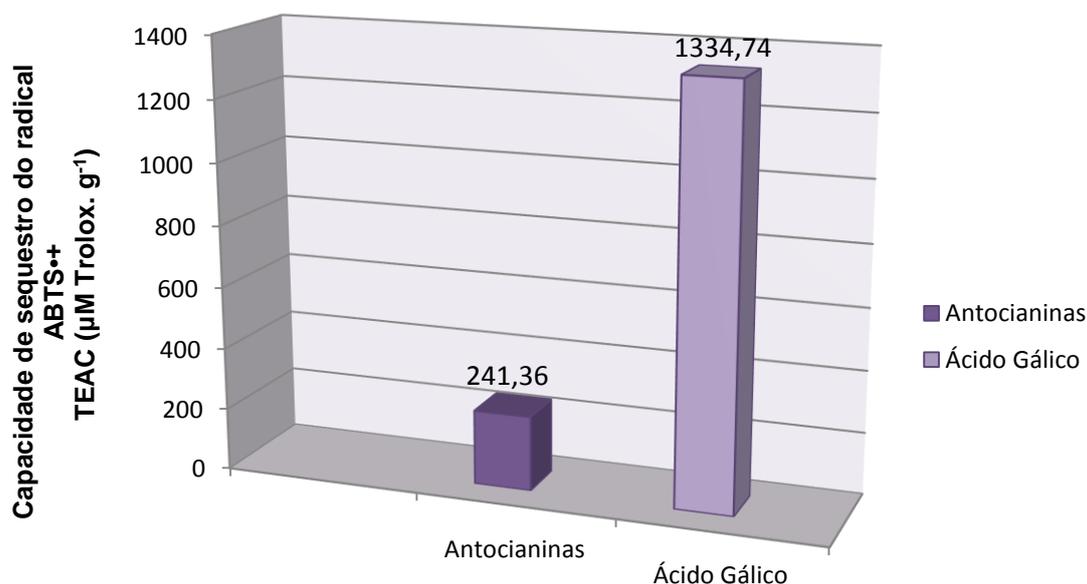
Melo et al. (2011) analisaram resíduos agroindustriais de uva Isabel (*Vitis labrusca*) e uva Verdejo (*Vitis vinifera*), onde encontraram percentual de sequestro maior que 80% para as duas variedades, tanto nos extratos aquosos, quanto etanólicos. Elevados potenciais de redução de DPPH[•] também foram observados por outros autores para extratos de bagaços de uva (RUBERTO et al., 2007; MAKRIS et al., 2007; LAFKA et al., 2007). Porém, estes resultados não podem ser comparados aos deste estudo, uma vez que esses autores utilizaram extratos que além de antocianinas também apresentavam outros compostos fenólicos.

Nayak et al. (2011), em estudo sobre a degradação térmica de antocianinas presentes em batata roxa comprovam que a purificação por extração em fase sólida (SPE, "solid phase extraction") utilizando cartuchos C₁₈ é eficiente, pois remove todos os compostos não-antociânicos, como ácidos, açúcares e outros fenólicos, garantindo a pureza das antocianinas, fato observado neste estudo.

Com relação à capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+} (Figura 2), as antocianinas apresentaram um valor de TEAC de 241,36 ± 3,74 µmol TEAC.g⁻¹

¹, significativamente inferior ao encontrado com o ácido gálico ($1.334,74 \pm 10,24$ $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$). Desta forma, pode-se afirmar que os pigmentos antociânicos do resíduo foram menos efetivos frente a esse radical. Comparando com outros estudos, Zhang, Fu e Zhang (2011) avaliando a capacidade antioxidante de antocianinas purificadas de flores de romã, encontraram valor de TEAC de $1,94 \pm 0,11$ a $2,39 \pm 0,13$ $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$, valores consideravelmente menores aos encontrados neste estudo.

Figura 2. Capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+} em equivalente de Trolox (TEAC) de antocianinas purificadas do resíduo de polpa congelada de uva e do ácido gálico



Rockenbach et al. (2008) avaliaram a capacidade antioxidante de extratos de bagaço de uvas (*Vitis vinifera*) das variedades *Tannat* e *Ancelota* frente ao radical ABTS^{•+} e obtiveram valores de TEAC de $17,2 \pm 0,4$ $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$ e $48,2 \pm 1,3$ $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$, respectivamente. Esses valores são consideravelmente menores do que os encontrados neste estudo, possivelmente pelo fato de que o resíduo analisado foi proveniente na vinificação, sofrendo extração etanólica durante a fermentação alcoólica/maceração. Analisando atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel, Soares et al. (2008), encontraram valores médios de TEAC entre 89,22 e 157,31 $\mu\text{mol TEAC.g}^{-1}$.

CONCLUSÃO

O resíduo agroindustrial resultante do processamento de polpa congelada de uva representa uma boa fonte de antocianinas. Estes compostos purificados apresentaram significativa propriedade antioxidante, mostrando-se eficientes em capturar os radicais DPPH[•] e ABTS^{•+}. Sendo assim, o resíduo agroindustrial de uva pode ser apontado como fonte promissora de antocianinas, substâncias com possibilidade de uso na indústria alimentícia, como um corante natural que apresenta além do poder tintorial, propriedades antioxidantes. No entanto, faz-se necessário o desenvolvimento de novos estudos a fim de testar a estabilidade deste pigmento, assim como sua toxicidade e sua capacidade antioxidante em matrizes alimentícias.

REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M. GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.349-400, 2007.

ALONSO, A. M.; GUILLÉN, D. A.; BARROSO, C. G.; PUERTAS, B.; GARCÍA, A. Determination of antioxidant activity of wine by-products and its correlation with polyphenolic content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.5832-5836, 2002.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER M.E.; BERSET C. Use of a free method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

CLEMENTE, E.; GALLI, D. Stability of the anthocyanins extracted from residues of the wine industry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.3, p.765-768, 2011.

CUI, C.; ZHANG, S.; YOU, L.; REN, J.; LUO, W.; CHEN, W.; ZHAO, M. Antioxidant capacity of anthocyanins from *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) and identification of the major anthocyanins. **Food Chemistry**, v.139, p.1-8, 2013.

ESPÍN, J.C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H.J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1588-1592, 2000.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A.; Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.52, p.481-504, 2000.

JU, Z. Y.; HOWARD, L. R. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.18, p.5207-5213, 2003.

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**, v.36, n.4, p.1283-1287, 2006.

LAFKA, T. I.; SINANOGLU, V.; LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, v.104, n.2, p.1206-1214, 2007.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the ph differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.88, n.5, p.1269-1278, 2005.

MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Compositions and Analysis**, v.20, n.2, p.125-132, 2007.

MAZZA, G. Anthocyanins in grapes and grape products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, p.341-371, 1995.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G. L.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.2, p.193-201, 2008.

MELO, P.S.; BERGAMASCHI.; TIVERON, A.P.; MASSARIOLI, A.P.; OLDONI, T.L.C.; ZANUS, M.C.; PEREIRA, G.E.; ALENCAR, S.M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.1088-1093, 2011.

NAYAK, B.; BERRIOS, J. J.; POWERS, J. R.; TANG, J. Thermal degradation of anthocyanins from purple potato (*Cv. Purple Majesty*) and impact on antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.11040-11049, 2011.

OLIVEIRA, F. M.; JACQUES, A.; SILVA, E. F. Antocianinas em subproduto da indústria vitivinícola. **Ciências Agrárias**, v.5, n.2, p.607-613, 2013.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; RUBIO, M. E. D.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Update methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v.41, p.274-285, 2008.

RAMIREZ-TORTOZA, C.; ANDERSEN, O. M.; GARDNES, P. T.; MORRICE, P. C.; WOOD, S. G.; DUTHIE, S. J.; COLLINS, A. R.; DUTHIE, G. G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin e-depleted rats. **Free Radical Biology & Medicina**, v.31, n.9, p.1033-1037, 2001.

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, 1999.

RENAUD, S.; DE LORGERIL, M. Wine, alcohol, platelets and french paradox for coronary heart disease. **Lancet**, v.339, p.1523-1526, 1992.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extrator de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.238-244, 2008.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; WROLSTAD, R. E. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. In R. E. WROLSTAD, **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** (pp.FI 1.1-1.11). New York: John Wiley & Sons, 2001.

RUBERTO, G.; RENDA, A.; DAQUINI, C.; AMICO, V.; SPATAFORA, C.; TRINGALI, C.; TOMMASI, N. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from Five Sicilian red grape cultivars. **Food Chemistry**, v.100, p.203-2010, 2007.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.; A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270-276, 1998.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casa de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.1, p.059-064, 2008.

TORRES, J. B.; VARELA, B.; GARCIA, M. T.; CARILLA, J.; MATITO, C.; CENTELLES, J. J.; CASCANTE, M.; SORT, X.; BOBET, R. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.26, p.7548-7555, 2002.

VINSON, J. A.; JANG, J.; YANG, J.; DABBAGH, Y.; LIANG, X.; SERRY, M.; PROCH, J.; CAI, S. Vitamins and especially flavonoids in common beverages are powerful in vitro antioxidants which enrich lower density lipoproteins and increase their oxidative resistance after ex vivo spiking in human plasma. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.2502, 1999.

ZHANG, L.; FU, Q.; ZHANG, Y. Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity. **FoodChemistry**, v.127, p.1444-1449, 2011.

CAPÍTULO II

EFEITO DA LUZ E DA TEMPERATURA SOBRE A ESTABILIDADE DAS ANTOCIANINAS PURIFICADAS DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE POLPA CONGELADA DE UVA ISABEL

RESUMO

O uso de corantes na indústria de alimentos é uma prática essencial, uma vez que a cor interfere diretamente na aceitação do produto pelo consumidor. A cada ano vem sendo reduzido o número de corantes artificiais utilizados pela indústria alimentícia, devido principalmente aos possíveis danos que podem causar a saúde do consumidor. As antocianinas possuem potencial como corante natural, no entanto, apresentam como principal desvantagem a sua instabilidade. Dessa forma, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a estabilidade das antocianinas purificadas provenientes do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva frente à luz e à temperatura. As antocianinas foram purificadas por extração em fase sólida, utilizando cartuchos C₁₈ com metodologia apropriada para promover a remoção de açúcares, ácidos e compostos fenólicos não antociânicos. Para avaliar a estabilidade à luz, as antocianinas foram diluídas em uma solução de Etanol 95%:HCl 1,5N; 85:15 v/v (pH=1,0) e distribuídas em tubos de ensaio, expostos à luz e na ausência de luz, durante um período de 840 horas. Periodicamente, a leitura da absorbância dos extratos foi realizada a 535nm. O efeito da temperatura sobre a estabilidade das antocianinas foi monitorado utilizando tubos de ensaio contendo antocianinas purificadas diluídas em água, acidificada com HCl (pH=1,0) e submetidos a temperaturas de 50°C, 70°C e 90°C, em banho termostatizado. Leituras da absorbância foram efetuadas na amostra recém-preparada (0 h) e após 1, 3, 5 e 7 horas de aquecimento. Os dados obtidos nos dois experimentos foram utilizados para o cálculo da constante de velocidade (k) e do tempo de meia vida ($t_{1/2}$) utilizando equações cinéticas de 1ª ordem. Os resultados obtidos evidenciaram que em presença de luz, o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) dos pigmentos antociânicos foi de 656,87h e na ausência de luz foi de 6.525,42h, apresentando constantes de velocidade (k) de $1,055 \times 10^{-3} \cdot h^{-1}$ e $1,062 \times 10^{-4} \cdot h^{-1}$, respectivamente, demonstrando que a ausência de luz contribuiu significativamente para o aumento da estabilidade das antocianinas. As antocianinas submetidas ao calor, às temperaturas de 50°C, 70°C e 90°C apresentaram constantes de velocidade (k) de $4,35 \times 10^{-3} \cdot h^{-1}$; $7,98 \times 10^{-2} \cdot h^{-1}$ e $2,27 \times 10^{-1} \cdot h^{-1}$, e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) de 159,31 h; 8,77 h e 3,05 h, respectivamente, demonstrando que os pigmentos antociânicos são degradáveis à ação de altas temperaturas sendo o efeito deletério mais intenso evidenciado na temperatura mais elevada. Os resultados evidenciam que o resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva pode ser considerado uma boa fonte de antocianinas, as quais apresentam potencial para serem utilizadas como corante natural em produtos alimentícios, desde que as condições do processamento e armazenamento sejam favoráveis à sua estabilidade.

Palavras-chave: *Vitis labrusca* L., resíduo agroindustrial, estabilidade.

ABSTRACT

The use of dyes in the food industry is an essential practical since it directly affects the color acceptance of the product by the consumer. Every year has been reduced the number of artificial colors used by the food industry, mainly due to the possible damage that can cause consumer health. Anthocyanins have potential as natural dye, however, have as a main disadvantage their instability. Therefore, this study aimed to evaluate the stability of the purified anthocyanins from the agroindustrial residue frozen pulp of grape front to light and temperature. Anthocyanins were purified by solid phase extraction using C₁₈ cartridges with appropriate methodology to promote the removal of sugars, acids and phenolics no anthocyanin. To evaluate light fastness, anthocyanins were diluted in a solution of ethanol 95% 1.5N HCl; 85:15 v/v (pH 1.0) and divided into vials, exposed to light and in the dark for a period of 840 hours. Periodically reading the absorbance of the extracts was performed at 535nm. The effect of temperature on the stability of anthocyanins was monitored using test tubes containing purified anthocyanins diluted with water, acidified with HCl (pH=1.0) and subjected to temperatures of 50°C, 70°C and 90°C in thermostated bath. Absorbance readings were made on freshly prepared sample (0h) and after 1, 3, 5 and 7 hours of heating. The data from the two experiments were used to calculation of the rate constant (k) and half-life ($t_{1/2}$) using 1st order kinetics equations. The results showed that in the presence of light, the half-life ($t_{1/2}$) of the anthocyanin pigments was 656.87h and in the absence of light was 6.525.42h, with constant speed (k) of $1.055 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $1.062 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$, respectively, demonstrating that the absence of light contributed significantly to increased stability of anthocyanins. Anthocyanins subjected to heat at temperatures of 50°C, 70°C and 90°C showed constant speed (k) of $4.35 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$; $7.98 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ and $2.27 \times 10^{-1} \text{ h}^{-1}$ and half life time ($t_{1/2}$) 159.31h; 8.77h and 3.05h, respectively, show that the anthocyanin pigments are degradable to the action of high temperatures being the most intense deleterious effect evidenced by the higher temperature. The results show that the agro-industrial residue grape frozen pulp can be considered a good source of anthocyanins, which have potential to be used as a natural colorant in food products, provided that the processing and storage conditions are favorable for stability.

Key Words: *Vitis labrusca* L., agroindustrial residue, stability.

INTRODUÇÃO

A utilização de corantes na indústria de alimentos trata-se de uma prática comum, visto que a cor e a aparência têm um papel importante na aceitação dos produtos pelo consumidor. Usualmente as indústrias de alimentos utilizam corantes de origem sintética, que apesar de apresentarem menores custos de produção, maior estabilidade e capacidade tintorial, o número de aditivos sintéticos permitidos nos países desenvolvidos vem diminuindo a cada ano (LOPES et al., 2007).

As antocianinas são flavonóides que se encontram largamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas. Elas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal, apresentando diversas funções, como ação antioxidante, capacidade tintorial, proteção das plantas à ação de radiação UV, mecanismo de defesa e função biológica, entre outros (LOPES et al., 2007; MARKAKIS, 1982).

Neste contexto, estes compostos fenólicos são considerados como potenciais substitutos para corantes sintéticos, devido, principalmente, a sua cor forte e brilhante e solubilidade em água, tornando-as atraentes para incorporação em uma variedade de sistemas alimentares (BORDIGNON-LUIZ et al., 2007). O uso de antocianinas como corante é indicado para alimentos não submetidos a temperaturas elevadas durante o processamento, com tempo curto de armazenamento e embalados de forma que a exposição à luz, ao oxigênio e à umidade seja minimizada (FENNEMA, 2000; PAZMIÑO-DURÁN et al., 2001).

A estabilidade das antocianinas é dependente de vários fatores, incluindo intensidade da luz, pH do meio, temperatura, qualidade e presença de outros pigmentos em conjunto, presença de metal, enzimas, oxigênio, ácido ascórbico, açúcares, óxido de enxofre, entre outros. Os efeitos da luz, temperatura e pH sobre as antocianinas são os fatores mais estudados por diversos autores, sendo sempre observada uma correlação entre esses fatores, além de relação direta entre esses efeitos e a decomposição dos pigmentos antocianínicos (MAZZA; MINITIATI, 1993; FRANCIS, 1989; KHANAL et al., 2010; ROOBHA et al., 2011).

Portanto, a substituição de corantes sintéticos por corantes naturais trata-se de um grande desafio, principalmente relacionado à estabilidade dos corantes naturais. Logo, são necessários novos estudos na busca de fontes viáveis, que possuam melhor estabilidade e baixo custo. Desta forma, este trabalho objetiva avaliar a estabilidade de pigmentos antociânicos purificados, provenientes do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva, frente à luz e ao calor.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O resíduo de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) foi cedido por uma unidade processadora de polpa congelada localizada em Recife – PE, que recebe uvas provenientes de uma plantação do município de São Vicente Férrer - PE (Latitude 07° 35' 28" S; Longitude 35° 29' 29" O). A cidade apresenta duas safras anuais de uva Isabel, sendo o resíduo utilizado, proveniente da primeira safra anual, que ocorreu no mês de Fevereiro de 2014. Este resíduo foi acondicionado em sacos de polietileno de baixa densidade e transportado, em caixa isotérmica, ao Laboratório de Análises Físico-Químicas de Alimentos (LAFQA), do Departamento de Ciências Domésticas (DCD), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde foi imediatamente armazenado sob congelamento ($-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$) para ser utilizado nos experimentos.

Métodos

Extração das antocianinas

As antocianinas do resíduo de polpa congelada de uva foram extraídas conforme metodologia descrita por Rodriguez-Saona; Wrolstad (2001), modificada por utilizar acetona p.a. acidificada com HCl 0,01%. Após a filtração, o procedimento de extração foi repetido até a completa remoção dos pigmentos. Em seguida, o volume do filtrado foi quantificado e transferido para um funil de separação, ao qual foi adicionado o dobro do volume de clorofórmio e estocado durante uma noite a 4°C para ocorrer a separação das fases. A fase superior (aquosa) foi levada ao evaporador rotativo a temperatura entre $38^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 10 a 15 minutos para remoção da acetona residual. O extrato aquoso foi estocado a $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para ser utilizado nas etapas posteriores. Todos os procedimentos foram realizados em condições de reduzida incidência de luz.

Purificação das antocianinas

As antocianinas foram purificadas por extração em fase sólida (SPE, “solid phase extraction”), utilizando cartuchos C₁₈ (Allthec Associates, Deerfield, IL) segundo metodologia descrita por Rodriguez-Saona e Wrolstad (2001), onde houve a remoção dos ácidos, dos açúcares e dos compostos fenólicos nãoantociânicos. Após a purificação, o extrato metanólico obtido contendo as antocianinas foi concentrado à vácuo até a obtenção de um resíduo seco ao qual foi adicionado éter dietílico com a finalidade de precipitar os pigmentos (ESPÍN et al., 2000). As antocianinas em pó obtidas foram armazenadas sob congelamento (-18°C ± 1°C) até o momento das análises.

Estabilidade à luz

Para avaliar a estabilidade das antocianinas à luz, as antocianinas purificadas foram diluídas em uma solução de etanol 95%:HCl 1,5N; 85:15 v/v (pH=1,0), atingindo a concentração de 0,1 mg.mL⁻¹ e distribuídas em 12 tubos de ensaio (20mL) com tampas de borracha, mantidos à temperatura de 21°C ± 1°C. Seis tubos foram expostos à luz fluorescente (80W) que se encontravam à distância de 1,45 m, e os outros seis tubos foram mantidos ao abrigo da luz, cobertos cuidadosamente com tecido “Black-out” (100% polipropileno). Periodicamente, durante um período de 840 horas, as leituras da absorvância da solução de antocianinas foram registradas a 535 nm de acordo com método descrito por Lees e Francis (1972).

Os dados obtidos foram utilizados para o cálculo da constante de velocidade (k) e do tempo de meia vida (t_{1/2}) das antocianinas através das equações cinéticas 1 e 2 (MAHAN e MYERS, 1993):

$$-\ln \left(\frac{\text{Absorbância (t)}}{\text{Absorbância (t}_0\text{)}} \right) = kt \quad (1)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (2)$$

Onde: Absorbância (t) = absorbância em relação ao tempo; Absorbância (t₀)= absorbância no tempo “zero”; k = constante de velocidade; t = tempo (horas); t_{1/2}= tempo de meia vida

Estabilidade ao calor

O efeito da temperatura sobre a estabilidade das antocianinas foi monitorado utilizando tubos de ensaios rosqueados, cobertos com papel alumínio e selados com parafilme, contendo antocianinas purificadas diluídas em água, na concentração de 0,1 mg.mL⁻¹, acidificada com HCl até atingir pH 1,0.

Os tubos contendo 15 mL da solução de antocianinas foram submetidos às temperaturas de 50°C, 70°C e 90°C, em banho termostatizado com circulação de água, durante os períodos de 1, 3, 5 e 7 horas. A leitura da absorbância foi efetuada na amostra recém preparada (0 h) e após cada período de aquecimento. Após esses intervalos de tempo, as amostras foram removidas do banho termostatizado e esfriadas utilizando um banho de gelo até atingir a temperatura ambiente (22 ± 2 °C).

Após atingir a temperatura ambiente (22 ± 2 °C), a solução aquosa de antocianinas foi apropriadamente diluída em duas soluções tampão; cloreto de potássio 0,025 M, pH 1 e acetato de sódio 0,4 M, pH 4,5. Após 15 min de repouso, leituras de absorbância foram efetuadas à 520 nm e 700 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC), em cubetas de 1 cm de caminho óptico e calculada segundo equação 3 (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5} \quad (3)$$

Os valores de absorvância foram utilizados para o cálculo da constante de velocidade (k) e do tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das antocianinas através das equações cinéticas 1 e 2, acima citadas (MAHAN; MYERS, 1993).

O teor de antocianinas foi calculado e expresso como equivalente de malvidina 3-glicosídeo considerando o coeficiente de extinção molar (ϵ) de 28.000 L cm⁻¹ mol⁻¹ e o peso molecular (PM) de 493,2 g. mol⁻¹, ambos correspondentes à malvidina 3-glicosídeo, antocianina presente em maior quantidade em uvas (equação 4) (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

$$\text{Teor de antocianinas monoméricas (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 1000}{\epsilon \times 1} \quad (4)$$

Onde: A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH 4,5}; PM = peso molecular; FD= fator de diluição; 1000 = fator de conversão de grama para miligrama; ϵ = absortividade molar.

Análise estatística

O experimento foi instalado segundo delineamento experimental inteiramente ao acaso. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e as médias dos valores encontrados, submetidas ao Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico “Statistica” (versão 7, StatSoft, Inc., Tulsa, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito da luz sobre as antocianinas

Como esperado, as antocianinas purificadas do resíduo de polpa congelada de uva, quando submetidas ao abrigo da luz mantiveram-se mais estáveis do que as submetidas à luminosidade (Tabela 1). As constantes de velocidade (k) foram $1,062 \times 10^{-4} \cdot h^{-1}$ e $1,055 \times 10^{-3} \cdot h^{-1}$, para as protegidas da luz e expostas à luz, respectivamente. A perda de 50% da cor original (tempo de meia vida) ocorreu, portanto, após 656,87h (27,37 dias) para as antocianinas submetidas ao efeito da luz e ocorreria após 6.525,42h (271,89 dias) para as que estavam ao abrigo da luz, demonstrando que a ausência de luz contribuiu significativamente para o aumento da estabilidade das antocianinas.

Tabela 1. Perda de absorvância de antocianinas* purificadas, extraídas do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva, e submetidas à presença e ausência de luz (T=21 ± 1C°)

Tempo (horas)	Presença de Luz		Ausência de Luz	
	Abs (535 nm)	Perda (%)	Abs (535 nm)	Perda (%)
0	0,968 ^a ± 0,008	-	0,973 ^a ± 0,007	-
24	0,889 ^b ± 0,011	8,17	0,914 ^b ± 0,022	6,07
98	0,835 ^c ± 0,013	13,74	0,913 ^b ± 0,003	6,17
240	0,679 ^d ± 0,212	29,86	0,911 ^b ± 0,004	6,38
432	0,555 ^e ± 0,253	42,67	0,906 ^b ± 0,004	6,89
576	0,478 ^f ± 0,021	50,62	0,901 ^b ± 0,020	7,40
720	0,415 ^g ± 0,021	57,13	0,895 ^b ± 0,023	8,02
840	0,399 ^g ± 0,049	58,79	0,890 ^b ± 0,022	8,54

* Antocianinas em solução de etanol 95% : HCl 1,5 N; 85:15 v/v (pH=1,0)

Valores representam média de leituras de absorvância em 6 tubos.

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (p > 0,05).

Vários pesquisadores vêm estudando a estabilidade das antocianinas de diferentes fontes naturais e sob diferentes condições de experimento. Sarni-Manchado et al. (1996), verificaram que a presença de luz implica em perda significativa na cor de antocianinas extraídas das cascas de *Vitis vinifera* L.,

variedade Grenache Noir. O extrato antociânico foi purificado por cromatografia de coluna com PVP (polivinilpirrolidona) e a influência da luz foi testada, comparando as amostras expostas à luz e as amostras armazenadas no escuro, constatando uma perda de 80 a 90% do teor total de antocianinas durante um armazenamento de 8 dias.

Camarez et al. (2000) avaliaram a estabilidade do extrato bruto de antocianinas de cálices de vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.) e concluíram que os fatores que mais contribuíram para a degradação das antocianinas foram a incidência de luz associada a ação do oxigênio e aumento do pH. Esse fatores influenciaram também de modo significativo os resultados relatados por Kuskoski et al. (2000) que, ao avaliar a estabilidade dos extratos brutos alcoólicos (pH 3 e 4) de antocianinas do baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg), do jambolão (*Eugenia jambolana* Lamark) e de fonte comercial de antocianinas extraídas da uva (Chr. Hansen ®) expostos à luz e oxigênio, constataram que o tempo de meia vida das antocianinas foi 207,98h (uva); 508,06h (bagaçu) e 430,09h (jambolão). Esses valores foram menores do que o calculado nesse estudo (656,87h) o que pode ser explicado, em parte, pelo efeito de pH que foi ajustado para valor de pH=1,0. Segundo Lopes et al. (2007), a sensibilidade ao pH é o principal fator limitante no processamento e utilização das antocianinas, afetando a cor e a estabilidade química. Em soluções ácidas, a antocianina é vermelha, porém com o aumento do pH a intensidade de cor diminui.

A estabilidade das antocianinas presente em extrato bruto de pitanga roxa foi avaliada por Lima et al. (2005) onde relataram que tempo de meia vida do extrato protegido da luz foi 1.205,7h (50 dias) enquanto que o extrato submetido ao efeito da luz foi de 948,3h (39 dias) demonstrando a maior instabilidade do extrato antociânico à luminosidade.

Provenzi et al. (2006) estudaram a influência da β - e γ -ciclodextrinas sobre a estabilidade das antocianinas em extrato bruto de cascas de uvas Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.), sob presença e ausência de luz e de nitrogênio e pH 3,5, e relataram que o maior valor de tempo de meia vida foi de 497 horas, quando em ausência de luz e presença de nitrogênio e adicionado de γ -ciclodextrinas.

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com a investigação realizada por Bordignon-Luiz et al. (2007) sobre a estabilidade das antocianinas provenientes de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) em sistemas modelos. Esses pesquisadores utilizaram o extrato bruto de antocianinas num sistema modelo de iogurte e bebida reidratada e concluíram que a presença de luz influenciou significativamente no tempo de meia vida das antocianinas, uma vez que o teor desses pigmentos foi inferior quando comparado ao das amostras mantidas na ausência de luz. Em sistema modelo de iogurte, obtiveram um tempo de meia vida de 8.898h (370 dias), indicando que estes pigmentos apresentam excelente estabilidade neste produto.

A estabilidade da cor de antocianinas é dependente da estrutura e da concentração dos pigmentos, além de fatores como o pH, a presença de oxigênio e a temperatura (LOPES et al., 2007). Assim, com o objetivo avaliar a estabilidade de antocianinas presentes em néctar de camu-camu sob diferentes condições de luminosidade e de temperatura, Maeda et al. (2007) concluíram que após 120 dias, a temperatura de armazenamento foi o fator que mais influenciou na estabilidade das antocianinas, uma vez que não houve diferença significativa nos teores de antocianinas encontrados nos néctares armazenados e expostos à luz e na ausência de luz.

Segundo Mazza, Miniati (1993), a cor das antocianinas depende também, além dos fatores acima citados, da presença de copigmentos. Assim, a estabilidade da cor destes pigmentos pode ser melhorada através da copigmentação, fenômeno que protege o cátion flavílium da molécula antociânica do ataque nucleofílico da água (ASEN, STEWART, NORRIS, 1972). A copigmentação, portanto, promove aumento da intensidade da cor constatado pela obtenção de valores de absorvância mais elevados (efeito hiperacrômico) e no deslocamento da absorvância máxima ($\lambda_{m\acute{a}x}$) para comprimento de onda mais alto, conhecido como efeito batocrômico (CHEN; HRAZDINA, 1981; BOULTON, 2001). Segundo Asen, Stewart, Norris (1972), o efeito dos copigmentos torna-se mais intenso com o aumento da concentração das antocianinas e da relação copigmento/antocianinas. Nesse sentido, Vaniniet al. (2009) demonstraram que a estabilidade de extratos antociânicos de uva da cultivar Benitaka (*Vitis vinifera* L)

foi afetada significativamente pela presença de luz. No entanto, relataram que o extrato de antocianinas adicionado de ácido caféico, na proporção de 1,0:1,0 (p/v) aumentou significativamente o tempo de meia vida quando comparado ao controle (sem ácido caféico) o que ocorreu tanto na ausência como na presença de luz.

Falcão et al. (2003) em artigo de revisão sobre a copigmentação intra e intermolecular de antocianinas ressalta que flavonoides não-antociânicos, alcalóides, aminoácidos e nucleosídios, entre outros, podem atuar como copigmentos e dessa forma, aumentara estabilidade das antocianinas e, com isso, o seu potencial de aplicação. No entanto, estudos para avaliar a estabilidade de antocianinas adicionadas de copigmentos em sistemas modelos de alimentos ainda são necessários, visando aumentar o espectro de aplicação desses pigmentos como corantes em alimentos e bebidas.

Efeito do calor sobre as antocianinas

A exposição das antocianinas purificadas do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva ao calor demonstrou instabilidade em relação à temperatura (Tabela 2).

As antocianinas em solução aquosa acidificada com HCl (0,01%, v/v, pH=1,0) foram expostas às temperaturas de 50°C; 70°C e 90°C, durante 7 horas, o que possibilitou calcular um tempo de meia vida de 159,31h; 8,77h e 3,05h, respectivamente (Tabela 2). Pode-se constatar que na temperatura de 50°C, a constante de velocidade foi a menor, seguida pela temperatura de 70°C, com destaque na temperatura de 90°C, na qual a constante de velocidade foi a de maior valor, revelando a rapidez com que esses pigmentos foram degradados.

Tabela 2. Perda de absorvância de antocianinas* purificadas, extraídas do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva, e submetidas ao calor.

T (°C)	Tempo (h)	Abs	k (h ⁻¹)	t _½ (h)
50	0	0,801 ^a ± 0,003	4,35 x 10 ⁻³	159,31
	1	0,798 ^a ± 0,007		
	3	0,783 ^b ± 0,002		
	5	0,777 ^b ± 0,003		
	7	0,777 ^b ± 0,004		
70	0	0,729 ^a ± 0,023	7,98 x 10 ⁻²	8,77
	1	0,717 ^a ± 0,005		
	3	0,618 ^b ± 0,028		
	5	0,564 ^b ± 0,043		
	7	1,417 ^c ± 0,019		
90	0	0,912 ^a ± 0,208	2,27 x 10 ⁻¹	3,05
	1	0,726 ^a ± 0,234		
	3	0,540 ^a ± 0,125		
	5	0,237 ^b ± 0,027		
	7	0,186 ^b ± 0,004		

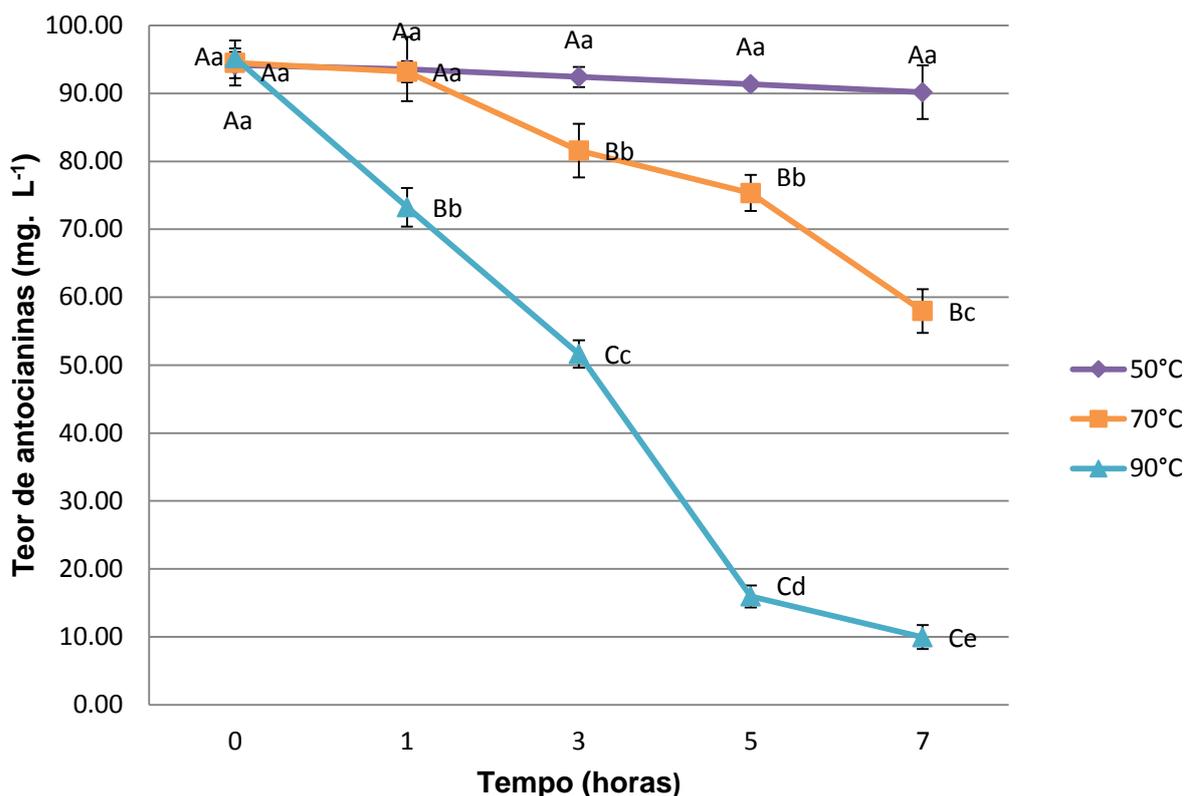
* Antocianinas em solução aquosa acidificada com HCl (0,01%, v/v, pH=1,0)

Médias nas colunas, em cada temperatura, seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (p > 0,05).

O conteúdo de antocianinas presente nas soluções submetidas ao calor se encontra representado graficamente em função do tempo na Figura 1, onde se pode constatar que, ao longo do período estudado, não houve diferença significativa nos teores de antocianinas quando submetidas ao aquecimento de 50°C. Essa constatação pode ser explicada pelo pH da solução que foi ajustado para pH=1 pois, de acordo com Brouillard (1982), em meio aquoso, as antocianinas são mais estáveis na estrutura de cátion flavílium, o que em geral é obtido com valores de pH menores que 3. No entanto, nas temperaturas de 70°C e 90°C, o teor de antocianinas apresentou uma redução significativa atingindo mais de 50% de perda na temperatura de 90°C, em menos de 4 horas. Logo, temperaturas mais elevadas apresentam efeito deletério na estabilidade de

pigmentos antociânicos mesmo mantendo o pH ideal para a estrutura do cátion flavílium.

Figura 1. Degradação de antocianinas* purificadas extraídas do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva durante o aquecimento.



* Antocianinas em solução aquosa acidificada com HCl (pH=1,0).

Valores com letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as temperaturas testadas e valores com letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa causada pelas diferentes condições de aquecimento, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A estabilidade das antocianinas e a taxa de degradação são notadamente influenciadas pela temperatura, pois à medida que se submete uma solução de antocianinas a uma temperatura superior à ambiente (25°C), a sua degradação é maior, sendo ainda mais acentuada quando se aumenta o pH do meio (LOPES et al., 2007).

Vargas et al. (2013) avaliaram a estabilidade de antocianinas purificadas extraídas das cascas de pitaiá (*Hylocereus undatus*) e submetidas à diferentes

temperaturas (4°C, 25°C e 68°C), diferentes valores de pH (pH 1, 4 e 6), e na ausência e presença de luz, durante um período de 4 semanas. Esses autores concluíram que nessas condições controladas, a melhor combinação dos fatores foi a temperatura de 4°C, ausência de luz e valor de pH igual a 4,0, o que propiciou uma maior estabilidade à esses pigmentos. Constataram, também, que na mais alta temperatura, na presença ou ausência de luz e independente do pH, ocorreu significativa perda do pigmento restando cerca de 20% do teor inicial de antocianinas o que corrobora os resultados desse estudo onde pode-se constatar o efeito deletério da temperatura, (Figura 1) especialmente à 90°C ($p < 0,05$).

Estudos sobre a estabilidade das antocianinas também foram evidenciados por outros pesquisadores. Kirca et al. (2007) avaliaram o efeito do teor de sólidos, da temperatura e pH na estabilidade de antocianinas presentes no suco de cenouras negras. Constataram que a taxa de degradação das antocianinas foi maior com o aumento da temperatura e do teor de sólidos. No valor mais baixo de pH (2,5) e em temperaturas de 70°C, 80°C e 90°C, relataram um tempo de meia vida de 25,1h; 12,6h e 5,6h, respectivamente, o que corrobora os resultados deste estudo e confirma o efeito deletério de altas temperaturas na estabilidade das antocianinas. O pH tem uma forte influência na estabilidade das antocianinas e por esta razão, Kirca et al. (2007) também estudaram a estabilidade térmica das antocianinas em seis diferentes pH (2,5-7,0) e constataram significativo decréscimo da estabilidade desse pigmentos em pH acima de 5,0.

Estudo sobre a degradação cinética de antocianinas presentes em suco de laranja vermelha concentrado foi realizado por Kirca e Cemeroglu (2003), que ao submeter o suco às temperaturas de 70°C, 80°C e 90°C com variação de sólidos (Brix) de 11,2, 45 e 69 evidenciaram que depois de decorridos 120 minutos, a perda de antocianinas foi de 14,4, 21,5 e 60,9%, respectivamente. Observaram também, que quanto maior a concentração de sólidos solúveis no suco, maior a taxa de degradação de antocianinas.

Moldovan et al. (2012) avaliaram a estabilidade das antocianinas de “cranberrybush” (*Viburnum opulus* L.) em extrato aquoso e etanólico, armazenados durante 7 dias a temperaturas de 2°C; 37°C e 75°C e pH 3 e 7. Dentre os resultados obtidos, as condições de pH 3, temperatura de 2°C e em

extrato aquoso propiciaram o maior tempo de meia vida (1.155h), condições que ratificam o efeito desses fatores na estabilidade das antocianinas.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que as antocianinas expostas à luz revelaram uma maior instabilidade quando comparada com as que foram mantidas ao abrigo da luz. Quando submetidas ao aquecimento, o tempo de meia vida das antocianinas foi inversamente proporcional à intensidade da temperatura, apresentando o menor efeito deletério a temperatura de 50°C. A luz e o aquecimento afetam a estabilidade das antocianinas. No entanto, o reduzido tempo de meia vida desses pigmentos submetidos ao calor confirma que o aquecimento é um fator muito mais drástico sobre a estabilidade das antocianinas do que sua exposição à luz. Portanto, as antocianinas purificadas provenientes do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva surgem como possibilidade para uso como corante natural em produtos alimentícios, desde que sejam acondicionados em embalagens opacas, utilizadas em alimentos que apresentem um pH ácido e que não sejam submetidos à tratamentos térmicos severos durante seu processamento.

REFERÊNCIAS

ASEN, S.; STEWART, R. N.; NORRIS, K. H. Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. **Phytochemistry**, v.11, p.1169-1144, 1972.

BORDIGNON-LUIZ, M. T.; GAUCHE, C.; GRIS, E. F.; FALCÃO, L. D. Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. **Food Science and Technology**, v.40, n.4, p.594-599, 2007.

BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.52, p.67-87, 2001.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. London: Academic Press, 1982. p.1-40.

CAMAREZ, R. R. B.; KUSKOSKI, E. M.; BRIGHENTE, I. M. C.; FETT, R. Estabilidade das antocianinas do cálice de *Hibiscus sabdariffa* L. **Revista Brasileira de Corante Natural**, v.4, n.1/2, p.67-72, 2000.

CHEN, L.-J.; HRAZDINA, G. Structural aspects of anthocyanin-flavonoid complex formation and its role in plant color. **Phytochemistry**, v.20, p.297-303, 1981.

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

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258 p.

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

KHANAL, R. C.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Research International**, v.43, n.5, p.1464-1469, 2010.

KIRCA, A.; CEMEROĞLU, B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. **Food Chemistry**, v.81, n.4, p.583-587, 2003.

KIRCA, A.; OZKAN, M.; CEMEROĞLU, B. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. **Food Chemistry**, v.101, n.1, p.212-218, 2007.

KUSKOSKI, E. M.; MARQUES, P. T.; FETT, R. Estudo comparativo da estabilidade das antocianinas do baguaçu, jambolão e da uva. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.4, n.1/2, p.73-76, 2000.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standartization of pigment analysis in Cranberries. **HortScience**, v.7, n.1, p.83-84, 1972.

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

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociências**, v.13, n.3, p.291-297, 2007.

MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L. K. O.; CHAAR, J. M. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu camu (*Myrciaria dúbia* (H. B. K.) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.313-316, 2007.

MAHAN, B. M.; MYERS, R. J. Cinética química. In: MAHAN, B. M.; MYERS, R. J. (Ed). **Química: um curso universitário**. São Paulo: Edgard BlücherLtda, 1993. p.233-265.

MARKAKIS, P. **Introduction in anthocyanin in fruits, vegetables, and grain** (PP.1.28). Boca Roton, FL: CRC Press (Chapter 1), 1982.

MAZZA, G.; MINITIATI, E. **Introduction in anthocyanin in fruits, vegetables, and grain**. 3. ed. Boca Roton: London, 1993. 343 p.

MOLDOVAN, B.; DAVID, L.; CHISBORA, C.; CIMPOIU, C. Degradation kinetics of anthocyanins from European Cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. **Molecules**, v.17, n.10, p.11655-11666, 2012.

PAZMIÑO-DURÁN, E. A.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E.; GLÓRIA, M. B. A. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, v.75, n.2, p.211-216, 2001.

PROVENZI, G.; FALCÃO, L. D.; FETT, R.; LUIZ, M. T. B. Estabilidade de antocianinas de uvas Cabernet Sauvignon com β - e γ -ciclodextrinas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.3, p.165-170, 2006.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; WROLSTAD, R. E. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. In R.E. WROLSTAD, **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** (pp.FI 1.1-1.11). New York: John Wiley & Sons, 2001.

ROOBHA, J. J.; SARAVANAKUMAR, M.; ARAVINTHAN, K. M.; SUGANYA, P. Antioxidant analysis of anthocyanin extracted from *Musa acuminata* bract. **Journal of Pharmacy Research**, v.4, n.5, 2011.

SARNI-MANCHADO, P. S.; FULCRAND, H.; SOUQUET, J. M.; CHEYNIER, V.; MOUTONET, M. Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments. **Journal of Food Science**, v.61, n.5, p.938-941, 1996.

VANINI, L. S.; HIRATA, T. A.; KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Extraction and stability of anthocyanins from the Benitaka grape cultivar (*Vitis vinifera L.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.12, n.3, p.213-219, 2009.

VARGAS Y VARGAS, M. L.; CORTEZ, J. A. T.; DUCH, E. S.; LIZAMA, A. P.; MÉNDEZ, C. H. H. Extraction and stability of anthocyanins present in the skin of the dragon fruit (*Hylocereus undatus*). **Food and Nutrition Sciences**, v.4, n.12, p.1221-1228, 2013.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados desta pesquisa, nas condições em que foram obtidos, permitem concluir que:

- ✓ O resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva representa uma fonte significativa de antocianinas;
- ✓ As antocianinas purificadas apresentaram significativa propriedade antioxidante e habilidade de agirem como sequestradores de radical livre frente aos métodos utilizados;
- ✓ As antocianinas expostas à luz revelaram uma maior instabilidade quando comparada com as que foram mantidas ao abrigo da luz;
- ✓ Quando submetidas ao aquecimento, o tempo de meia vida das antocianinas foi inversamente proporcional à intensidade da temperatura, apresentando o menor efeito deletério a temperatura de 50°C;
- ✓ O aquecimento é um fator muito mais drástico sobre a estabilidade das antocianinas do que sua exposição à luz;
- ✓ As antocianinas purificadas provenientes do resíduo agroindustrial de polpa congelada de uva surgem como possibilidade para uso como corante natural em produtos alimentícios, desde que sejam acondicionados em embalagens opacas, utilizadas em alimentos que apresentem um pH ácido e que não sejam submetidos à tratamentos térmicos severos durante seu processamento.