

ANTOCIANINAS DE UVAS (*Vitis vinífera L.*) PRODUZIDAS EM SISTEMA CONVENCIONAL

ANTHOCYANINS IN GRAPES (*Vitis vinífera L.*) GROWN IN CONVENTIONAL SYSTEMS

Camila Gabriel Kato¹; Carolina Dário Tonhi²; Edmar Clemente³

^{1,2,3}Universidade Estadual de Maringá – UEM – Maringá – Brasil camilagkato@hotmail.com,
carol_tonhi@yahoo.com, eclemente@uem.br

Resumo

As antocianinas são pigmentos que proporcionam coloração às flores e aos frutos, indo do azul ao vermelho. Isso se deve a compostos fenólicos encontrados na uva, propriedades reconhecidas como benéficas ao ser humano. Mas devido a sua instabilidade à temperatura, à luz, ao pH e a copigmentação das antocianinas, suas aplicações na indústria alimentícia, ainda requerem certos cuidados. O objetivo desta pesquisa foi avaliar e aperfeiçoar métodos de extração e purificação de antocianinas de uvas Bordô e ainda, utilizar os ácidos caféico, p-cumárico e ferúlico no estudo como possíveis estabilizantes de moléculas. Os resultados demonstraram que para a extração de antocianinas o etanol 60% acidificado a pH 2,0 é o mais eficaz, em conjunto com a copigmentação de antocianinas ocorreu a complexação dos ácidos caféico, p-cumárico e ferúlico. O ácido caféico não favoreceu o aumento do tempo de meia vida das antocianinas em nenhuma das condições estudadas o mesmo foi observado quando se utilizou o ácido p-cumárico. No entanto quando se fez o uso do ácido ferúlico observou-se o aumento do tempo de meia vida.

Palavras-chave: uva bordô; ácido caféico; ácido p-cumárico; ácido ferúlico; extração de antocianinas.

1 Introdução

A árvore que produz a uva chama-se videira, também conhecida como parreira. Originária do árido Cáucaso, na Ásia, há 6.000 AC. A uva é uma das frutas mais antigas utilizadas na alimentação humana e sua produção se espalha por todo o mundo. No Brasil, o cultivo da videira teve início em 1535, na Capitania de São Vicente, trazida pelos portugueses.

A uva apresenta um formato arredondado, podendo ser, de acordo com a espécie, de cor preta, rosada ou verde. Existem diversas tipos de uva, porém, as mais conhecidas no Brasil são: uva Itália, Niágara e Bordô. É uma fruta rica em sais minerais, tais como: cálcio, ferro, fósforo, magnésio, sódio e potássio. Possui também, em quantidade razoável, vitaminas (complexo B e vitamina C), seu sabor varia muito de acordo com o tipo de solo, podendo ser doce, cítrico ou ácido.

A cultivar Bordô, originária dos EUA, é uma das principais videiras de *Vitis labrusca*. É grande a demanda para a elaboração de vinho tinto, suco, vinagre, geléias e, por sua precocidade, é consumida *in natura*. Embora haja maior valorização de uvas *viníferas* e o vinho produzido a partir da cv. Bordô apresenta aroma e gostos fixados, pelo hábito de consumo, associado às informações indicando os benefícios de pigmentos e taninos existentes nessa uva, faz com que ela mantenha grande potencial de expansão (ROMBALDI, 2004).

As antocianinas (originária das palavras gregas *anthos*, flor e *kianos*, azul), são pigmentos que conferem às flores, frutos, caules, raízes de plantas e até em algumas folhas, a coloração azul, roxa e as nuances de cores entre laranja e vermelha (MALACRIDA e MOTTA, 2006). Nas videiras estas 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. São compostos fenólicos, solúveis em água e altamente instáveis em temperaturas elevadas.

As antocianinas pertencem à família dos flavonóides, compostos fenólicos caracterizados pelo núcleo básico flavílio (cátion 2-fenilbenzopirílio) que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio. A molécula de antocianina é constituída por duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, freqüentemente, um grupo de ácidos orgânicos (FRANCIS, 1989).

A solubilidade em água ocorre devido as antocianinas serem moléculas polares, possuindo assim, grupos substituintes polares (hidroxilas, carboxilas e metoxilas) e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos. Mas dependendo das condições do meio, as antocianinas podem ser solúveis em éter. Essas características ajudam na extração e separação das antocianinas (VALDUGA et al., 2008).

Existem aproximadamente 400 antocianinas diferentes. As antocianinas encontram-se distribuídas em numerosas famílias de plantas: *Vitaceae* (uva), *Rosaceae* (cereja, ameixa, framboesa, morango, amora, maçã, pêsego, etc.), *Solanaceae* (tamarindo, batata), *Saxifragaceae* (groselha preta e vermelha), *Ericaceae* (mirtilo, oxicoco), *Cruciferae* (repolho roxo, rabanete), *Leguminoseae* (vagem) e *Gramineae* (sementes de cereais) (MALACRIDA e MOTTA, 2006).

Além de contribuir para a cor de flores e frutas, as antocianinas atuam como filtro das radiações ultravioletas nas folhas. Em certas espécies de plantas estão associadas com a resistência aos patógenos e atuam melhorando e regulando a fotossíntese (MALACRIDA e MOTTA, 2006).

As antocianinas são empregadas também na indústria, com destaque para as aplicações na fabricação de vinhos e corantes naturais, como também, na área de ensino em química, servindo de indicadores de pH.

Em diversos estudos realizados com os compostos fenólicos, especialmente os flavonóides (antoxantinas e antocianinas), observou-se que as antocianinas encontradas nos frutos

demonstraram capacidade de captar radicais livres (atividade antioxidante) com efeitos positivos na prevenção de enfermidades cardiovasculares, circulatórias, cancerígenas, diabetes e mal de Alzheimer (KUSKOSK et al., 2006).

A uva ganha destaque dentre as frutas que contém fontes de compostos fenólicos, pois nela se encontram os principais como os flavonóides (antocianinas, flavanóis e flavonóis), os estilbenos (resveratrol), os ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzóicos) e uma larga variedade de taninos. A uva é uma fonte de compostos fenólicos, no entanto, os conteúdos fenólicos totais e de antocianinas nela encontrados, variam de acordo com a espécie, variedade, maturidade, condições climáticas e cultivar.

Os principais fatores que influenciam na estabilidade das antocianinas são: estrutura química, efeito do pH, temperatura, oxigênio, luz, degradação enzimática e as interações entre os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos.

O grau de hidroxilação influencia na estabilidade das antocianinas, pois quanto maior a quantidade de grupos hidroxilas nem sua estrutura, menos estável ela será. Em relação a metoxilação, quanto maior o grau, maior será a estabilidade das antocianinas.

O pH além de influenciar a coloração das antocianinas, também influencia a estabilidade destas. A coloração apresentada pelas antocianinas em pH de baixo valor, geralmente fica próximo ao vermelho, enquanto que a coloração azul é encontrada em valores intermediários de pH e incolor, em valores de pH elevados (FALCÃO, 2003).

De acordo com Brouillard e Dubois (1977), o mecanismo de degradação das antocianinas pelo calor ocorre provavelmente devido à abertura do anel do cátion flavilium e sua conversão à forma chalcona, que é incolor. Essa degradação é irreversível e confere a formação de produtos de coloração marrom. Normalmente o aumento de temperatura causa um aumento logarítmico na destruição das antocianinas; isto pode ocorrer durante o armazenamento e estocagem dos alimentos. (MAZZA e MINIATI, 1993). O mecanismo de degradação fotoquímica das antocianinas não é completamente compreendido e o conhecimento da estabilidade das antocianinas à luz, é limitado.

Geralmente as antocianinas são mais estáveis quando expostas à luz ultravioleta e visível, ou outras fontes de radiação ionizantes. Ocorre uma transformação mais perceptível nas antocianinas quando o fator luz é combinado com o efeito do oxigênio. A degradação das antocianinas através do oxigênio pode ocorrer através de oxidação direta ou indireta, quando constituintes oxidados do meio reagem com as antocianinas. A descoloração das antocianinas pode ocorrer através do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), formado pela oxidação do ácido ascórbico na presença de oxigênio e íons cobre. Acredita-se que a degradação das antocianinas nessas condições, seja mediada pelo H_2O_2 , ou então, pode-se dizer que a degradação é a ocorrência da reação de condensação entre o ácido ascórbico e a

antocianina, formando produtos instáveis que se degradam em compostos incolores (MALACRIDA e MOTTA, 2006).

Copigmentação é o fenômeno que torna a coloração das antocianinas mais azul, mais brilhantes e mais estável devido a interação entre substâncias orgânicas (como alguns flavonóides, polifenóis e ácidos orgânicos) e antocianinas mesmo em pH de tecidos vivos (BORDIGNON-LUIZ et al., 2007).

A presença de ácido caféico na molécula aumenta a estabilidade de antocianinas. Dangles, Saito e Brouillard (1993) sugeriram a existência de interação entre o cromóforo de pelargonidina e grupos cafeoil de antocianinas extraídos de pétalas de *Pharbits nil* (cultivares vermelho-púrpura). Utilizando H-NMR, espectroscopia de Massa e espectroscopia UV-Vísivel, verificaram que a cafeilação de agliconas pelargonidina diminui a constante termodinâmica de hidratação, retardando o deslocamento do equilíbrio da forma cátion flavilium (vermelho) para hemiacetal (incolor). Os pigmentos tri, di e monocafeilados apresentaram maior estabilidade na ordem citada. Foi demonstrado também, que antocianinas 3,5-diglicosídeos foram mais rapidamente hidratados do que as correspondentes 3-monoglicosídeos.

O ácido caféico é um composto fenólico que está contido no tecido da planta. Além de uma importante função metabólica, os ácidos cinâmicos constituem o principal grupamento acil na estrutura das antocianinas aciladas, que também fazem parte do tecido vegetal. Dimitric-Markovic, Petranovic e Baranac (2000), avaliaram *in vitro* a reação de copigmentação intermolecular da malvidina 3,5-diglicosídeo com o ácido caféico utilizando espectrofotometria UV-Vis. Estes autores constataram que o ácido orgânico possui capacidade de participar de reações de copigmentação com antocianinas e que este processo, depende do pH do meio, concentração do co-pigmento e temperatura (GRIS et al., 2007).

Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar e aperfeiçoar métodos de extração e purificação de antocianinas de uvas Bordô e ainda, utilizar os ácidos caféico, p-cumárico e ferúlico no estudo como possíveis estabilizantes de moléculas.

2 Material e métodos

Material

Os frutos foram colhidos no município de Marialva/PR e o experimento foi realizado no Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá. As antocianinas foram extraídas de uvas da cv. Bordô e das frações obtidas, se avaliou o teor de antocianinas e estudos da estabilidade destes pigmentos mediante a adição de ácidos orgânicos com diferentes condições de armazenamento.

Métodos

Extração e quantificação de Antocianinas

A extração das antocianinas foi feita através do método descrito por Less e Francis (1972), utilizando diferentes solventes. Em seguida, foi realizada a leitura das absorvâncias do extrato bruto diluído em solvente extrator, podendo assim, determinar a quantidade de antocianinas totais presentes em 100 gramas de uva, usando-se como solvente extrator etanol 60, 70 e 80% em água e mistura metanol/etanol 30/30, 40/30 e 50/30% em água, em pHs 2,0; 3,0 e 4,0, acidificados com ácido clorídrico 0,1% (v/v). A técnica consiste em realizar leituras de absorvância no comprimento de onda de máxima absorção do extrato bruto diluído no solvente extrator. A equação 1 apresenta o cálculo simplificado para a quantificação.

$$\begin{aligned} - \text{FD} &= \text{VEO}/\text{VA} \times \text{VS} && \text{Equação 1} \\ - \text{AT (MG/100g)} &= \text{A} \times \text{FD} / \text{E}^{1\%}_{1\text{cm}} \end{aligned}$$

Onde,

- FD = fator de diluição;
- VEO = volume de extrato bruto original;
- VA = volume de alíquota do extrato utilizado para diluição em solvente extrator;
- VS = volume de solvente utilizado para diluição do extrato;
- AT = antocianinas totais (mg) por 100g de amostra;
- A = absorvância do extrato diluído no comprimento de onda de máxima absorção;
- $\text{E}^{1\%}_{1\text{cm}} = 98,2$; coeficiente de absorvidade molar para uma mistura de antocianinas purificadas;

Estabilidade de Antocianinas.

A estabilidade das antocianinas foi feita segundo método descrito por Falcão (2003), utilizando os ácidos caféico, p-cumárico e ferúlico, nas proporções 1:1, 0,75: 1 e 0,5:1 (massa do ácido/ volume do extrato).

Foram preparadas amostras controle (sem adição dos ácidos) e amostras testes (com adição dos ácidos). O preparo das soluções foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Stringheta (1991), em triplicata e em quatro diferentes condições de armazenamento: em temperatura ambiente, iluminado e no escuro, refrigerado, iluminado e no escuro. Assim calculou-se o tempo de meia vida (horas), através das seguintes equações:

$$- k.t = -2,303 \times \log \text{At}_x / \text{At}_0 \quad \text{Equação 2}$$

$$- t^{1/2} = 0,693 / k \quad (3) \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

- At_x = absorvância em relação ao tempo;

- A_{t_0} = absorvância no tempo zero;
- k = constante de velocidade;
- t = tempo (dias, horas, minutos, segundo);
- $t^{1/2}$ = tempo de meia vida;

Estabilidade das antocianinas sob diferentes condições de armazenamento

As amostras de antocianinas em solução tampão armazenadas sob refrigeração foram avaliadas durante 615 horas e as armazenadas à temperatura ambiente, durante 251 horas.

3 Resultados e discussão

Extração e quantificação de Antocianinas

A quantificação das antocianinas totais foi feita através de espectrofotometria, em intervalos de tempo periódicos, durante 9 dias para as amostras armazenadas em temperatura ambiente e 25 dias para as amostras armazenadas sob refrigeração.

Os valores da concentração dos pigmentos utilizados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Teores de Antocianinas utilizando diferentes pHs e solventes extratores

| Etanol | | Metanol/Etanol | |
|-----------------|--|-----------------------|--|
| Solvente | Antocianinas* (mg/100g de uvas) | Solvente | Antocianinas* (mg/100g de uvas) |
| 60% - pH 2,0 | 203,7±1,08a | 30/30 - pH 2,0 | 107,4±0,88b |
| 60% - pH 3,0 | 71,3±0,44d | 30/30 - pH 3,0 | 31,0±0,05f |
| 60% - pH 4,0 | 49,4±0,02e | 30/30 - pH 4,0 | 16,3±0,07g |
| 70% - pH 2,0 | 97,8±0,56b | 40/30 - pH 2,0 | 131,9±0,96a |
| 70% - pH 3,0 | 46,8±0,04f | 40/30 - pH 3,0 | 32,6±0,03e |
| 70% - pH 4,0 | 14,3±0,09i | 40/30 - pH 4,0 | 6,6±0,03h |
| 80% - pH 2,0 | 96,23±0,55c | 50/30 - pH 2,0 | 99,8±0,60c |
| 80% - pH 3,0 | 39,7±0,08g | 50/30 - pH 3,0 | 41,3±0,02d |
| 80% - pH 4,0 | 22,4±0,02h | 50/30 - pH 4,0 | 3,6±0,02i |

* Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

As concentrações de antocianinas totais encontradas para a uva ficaram dentro do previsto por Bridle e Timberlake (1997) (30-750 mg/100 g), exceto os extratos preparados com mistura metanol/etanol e pH 4,0 que apresentaram valores muito inferiores de antocianinas do que os encontrados por outros autores.

Rombaldi et al. (2004) encontraram para uva Bordô teores de antocianinas totais entre 345 e 427 mg/L de mosto de uva e Tecchio et al. (2007) prevê concentração média de 778,8 mg/L de vinho de uva Bordô, valores mais altos do que os obtidos no presente experimento.

Dentre os solventes utilizados, o etanol 60% acidificado a pH 2,0 foi o mais efetivo na extração de antocianinas, resultando em uma concentração de 203,67 mg/100g.

Pela análise estatística, pode-se observar uma grande variação nos teores de antocianinas encontrados, quando comparadas as diferentes concentrações de solvente utilizadas. Esta diferença deve-se em grande parte, às condições de extração e armazenamento do extrato. Por serem compostos altamente instáveis, o armazenamento prolongado das uvas a baixas temperaturas pode ter contribuído para degradação das antocianinas, resultando nos baixos teores encontrados.

Além disso, a grande variação nos teores de antocianinas encontrados pode ser devido à diferença de cultivares e/ou mistura de variedades, da época de colheita, do clima e do solo das regiões produtoras.

O fator determinante nos teores de antocianinas foi a condição do pH. Quanto mais baixo o pH, maior foi a concentração destes pigmentos, confirmando a teoria apresentada por Francis (1982) onde é dito que se deve manter o pigmento na forma AH^+ cátion flavillium.

O etanol pode ser preferido para extração de antocianinas, quando utilizadas em alimentos, pois seu potencial de extração é apenas levemente inferior ao metanol e pode-se evitar a toxicidade de soluções metanólicas (MARKAKIS, 1982).

Para o uso industrial, os solventes podem ser parcialmente ou totalmente eliminados em rota-evaporador, em temperaturas que variam de 30 à 40°C, resultando em um corante alimentício natural.

Estabilidade de antocianinas com a adição dos ácidos orgânicos

O teor dos sólidos totais (p/v) do extrato bruto foi calculado em 23mg/mL. A partir deste valor, foram adicionados os ácidos caféico, p-cumárico e ferúlico nas proporções 1:1, 0,75:1 e 0,5:1 (p/v). O volume (mL) de extrato bruto e a massa (mg) dos ácidos adicionados à solução tampão, podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 – Concentrações dos ácidos caféico, p-cumárico e ferúlico e volume de extrato antociânico utilizados no experimento.

| Ácido | Concentração ácido:extrato antociânico (p/v) | Extrato antociânico (em 100mL de sol. tampão) (mL) |
|--------------|---|---|
| Caféico | 0,5:1 (11,5 mg/mL) | 4 |
| | 0,75:1 (17,25 mg/mL) | 4 |
| | 1:1 (23 mg/mL) | 4 |
| P-cumárico | 0,5:1 (11,5 mg/mL) | 4 |
| | 0,75:1 (17,25 mg/mL) | 4 |
| | 1:1 (23 mg/mL) | 4 |
| Ferúlico | 0,5:1 (11,5 mg/mL) | 4 |
| | 0,75:1 (17,25 mg/mL) | 4 |
| | 1:1 (23 mg/mL) | 4 |

As diferentes proporções de ácidos em relação aos sólidos totais do extrato bruto de antocianinas foram avaliadas para verificar a possível reação de copigmentação, podendo ser

observados na Figura 1, Figura 2 e Figura 3, indicando respectivamente, adição de ácido caféico, adição de ácido ferúlico e adição de ácido p-cumárico.

Figura 1 - Efeito da adição de ácido caféico nas proporções 1:1, 0,75:1 e 0,5:1 (ácido caféico: volume de extrato bruto de antocianinas, peso/volume) no comprimento de onda de máxima absorção para antocianinas de uvas em pH 3,0

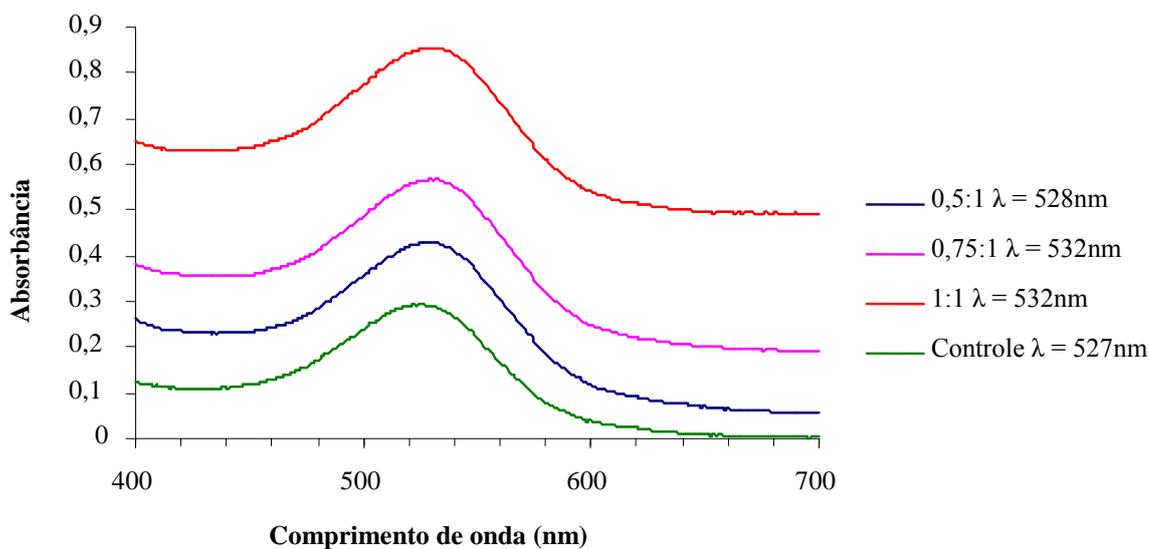


Figura 2 - Efeito da adição de ácido ferúlico nas proporções 1:1, 0,75:1 e 0,5:1 (ácido ferúlico: volume de extrato bruto de antocianinas, peso/volume) no comprimento de onda de máxima absorção para antocianinas de uvas em pH 3,0

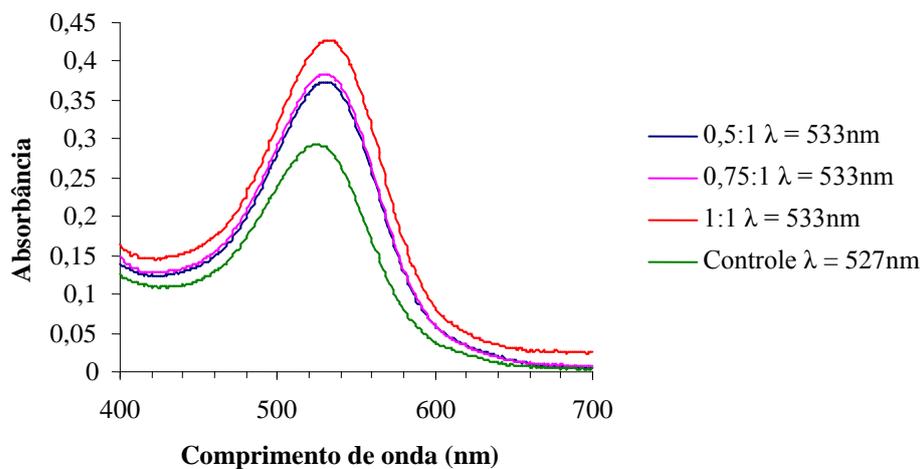
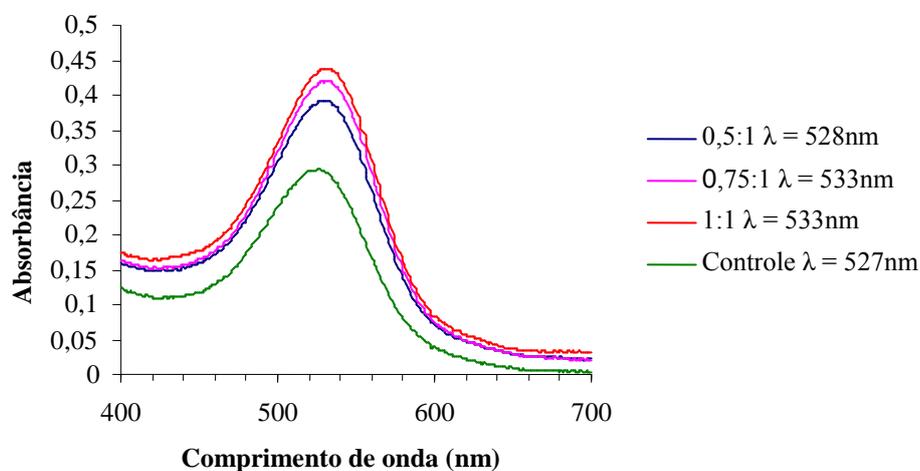


Figura 3 - Efeito da adição de ácido p-cumárico nas proporções 1:1, 0,75:1 e 0,5:1 (ácido p-cumárico: volume de extrato bruto de antocianinas, peso/volume) no comprimento de onda de máxima absorção para antocianinas de uvas em pH 3,0



A adição dos ácidos resultou em um aumento dos deslocamentos batocrômico (aumento do comprimento de onda de maior absorbância) e hiperacrômico (aumento da absorbância). A ocorrência desses efeitos sugere a reação de copigmentação conforme (DAVIES e MAZZA, 1993), ambos foram verificados, indicando a complexação dos ácidos caféico, p-cumárico e ferúlico com as antocianinas do extrato bruto de uvas Bordô. Esses efeitos, ocorrendo em conjunto na copigmentação de antocianinas com diferentes compostos fenólicos, foram verificados em várias pesquisas (GRIS et al., 2007, FALCÃO, 2003, DIMITRIC-MARKOVIC et al., 2000).

Estabilidade das antocianinas sob diferentes condições de armazenamento

Os extratos brutos de antocianinas foram preparados através de extração de cascas de uvas bordô (*Vitis labrusca*) com etanol. Esses extratos foram armazenados sob quatro diferentes condições: sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$), em presença de luz (60W) e na ausência de luz, e em temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), em presença e na ausência de luz.

As amostras de antocianinas em solução tampão armazenadas sob refrigeração, foram avaliadas durante 615 horas e as armazenadas à temperatura ambiente, durante 251 horas. Os resultados obtidos para o tempo de meia vida e percentagem de retenção de cor podem ser observados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3 - Tempo de meia vida das amostras controle (sem adição de ácidos orgânicos) e amostras adicionadas de ácido caféico, ácido ferúlico e ácido p-cumárico (proporções 1:1, 0,75:1 e 0,5:1 p/v em relação aos sólidos totais do extrato bruto de antocianinas de uvas)

| Condições experimentais | Temperatura | Ambiente (25±2°C) | | Refrigerado (4±1°C) | |
|-----------------------------|-------------|-------------------|-------------------|---------------------|--------|
| | Ambiente | Illuminado | Escuro | Illuminado | Escuro |
| Tempo de meia vida* (horas) | Controle | 271 ^a | 1214 ^a | 1081b | 3427b |
| | ACA 1:1 | 114e | 185c | 654bc | 1329b |
| | ACA 0,75:1 | 211bc | 219c | 758bc | 4589b |
| | ACA 0,5:1 | 247ab | 505b | 990b | 9027b |
| | AFE 1:1 | 150de | 179c | 1894a | 10480b |
| | AFE 0,75:1 | 115e | 219c | 758bc | 40534a |
| | AFE 0,5:1 | 108e | 238c | 466c | 993b |
| | APC 1:1 | 183cd | 155c | 797bc | 16054b |
| | APC 0,75:1 | 148de | 167c | 589bc | 20521b |
| | APC 0,5:1 | 213bc | 185c | 673bc | 4390b |

* Média de uma repetição em triplicata. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (p≤0,05).

Tabela 4 – Percentagem de retenção de cor das amostras controle (sem adição de ácidos orgânicos) e amostras adicionadas de ácido caféico, ácido ferúlico e ácido p-cumárico (proporções 1:1, 0,75:1 e 0,5:1 p/v em relação aos sólidos totais do extrato bruto de antocianinas de uvas), após 251 horas para temperatura ambiente e 615 horas para refrigerada.

| Condições experimentais | Temperatura | Ambiente (25±2°C) | | Refrigerado (4±1°C) | |
|-------------------------|-------------|-------------------|--------|---------------------|--------|
| | Ambiente | Illuminado | Escuro | Illuminado | Escuro |
| % Retenção de cor* | Controle | 53 | 87 | 67 | 88 |
| | ACA 1:1 | 22 | 39 | 52 | 74 |
| | ACA 0,75:1 | 44 | 45 | 57 | 90 |
| | ACA 0,5:1 | 49 | 71 | 65 | 97 |
| | AFE 1:1 | 32 | 38 | 80 | 97 |
| | AFE 0,75:1 | 22 | 45 | 57 | 98 |
| | AFE 0,5:1 | 20 | 48 | 40 | 64 |
| | APC 1:1 | 39 | 33 | 59 | 97 |
| | APC 0,75:1 | 31 | 35 | 49 | 93 |
| | APC 0,5:1 | 44 | 39 | 53 | 90 |

* Média de uma repetição em triplicata.

Observou-se que a adição de ácido caféico não contribuiu para o aumento do tempo de meia vida das antocianinas em nenhuma das condições estudadas. Este resultado discorda do obtido por Gris et al. (2007), os quais observaram um aumento no tempo de meia vida de antocianinas adicionadas de ácido caféico. A discordância pode ser justificada pelo fato de que, nesta pesquisa, utilizou-se extrato bruto de antocianinas e não pigmentos purificados.

Quanto ao ácido ferúlico, constatou-se que o mesmo conferiu um aumento significativo ao tempo de meia vida das antocianinas quando adicionado este composto, somente se armazenadas sob refrigeração. A presença do ácido ferúlico aumentou a estabilidade das antocianinas quando adicionado nas proporções 0,75:1, na condição de refrigeração e no escuro e 1:1 (p/v), na condição de refrigeração e sob incidência de luz.

A adição de ácido p-cumárico nas amostras não influenciou significativamente no aumento da estabilidade das antocianinas.

Comparando-se as diferentes temperaturas de armazenamento percebeu-se que as amostras mantidas a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ apresentaram valores de tempo de meia vida superiores. Quanto ao fator ambiente, observou-se que em presença de luz as amostras foram mais rapidamente degradadas do que quando mantidas no escuro. Estes resultados concordam com os obtidos em estudos anteriores (FALCÃO, 2003; GRIS et al. 2007, BORDIGNON-LUIZ et al. 2007).

Nas antocianinas armazenadas à temperatura ambiente, tanto no escuro quanto sob iluminação, observa-se uma diminuição no tempo de meia vida e na porcentagem de retenção de cor quando adicionadas de qualquer um dos compostos (ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico).

A presença de luz interferiu significativamente na estabilidade das antocianinas mantidas sob refrigeração. Esse resultado foi similar ao obtido por Provenzi (2001), que verificou que os fatores luz e temperatura foram determinantes na degradação de antocianinas de uvas *Vitis vinifera* L., mesmo na presença de agentes encapsulantes.

Os melhores resultados foram obtidos para o extrato antociânico adicionado de ácido ferúlico na proporção 0,75:1 (p/v) e armazenado sob refrigeração e no escuro que apresentou 98% de retenção de cor após 615 horas de armazenamento e tempo de meia vida superior a 40.000 horas.

4 Conclusão

A solução extratora para as antocianinas com melhor ação foi a de etanol 60% acidificado a pH 2,0. O ácido ferúlico que melhor estabilizou o extrato de antocianinas. As melhores condições de armazenamento para preservação desses pigmentos foram em temperatura de refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) e ao abrigo da luz, resultando em um tempo de meia-vida superior a 3400 horas ou 141 dias.

Abstract

Anthocyanins are pigments that provide color to flowers and fruits, ranging from blue to red. This is due to phenolic compounds found in grapes, properties recognized as beneficial to humans. However, because of their instability to temperature, light, pH and co-pigmentation of anthocyanins, the applications to the food industry still require some care. The aim of this study was to evaluate and optimize methods of extraction and purification of anthocyanins, as well as to use the caffeic, p-coumaric and ferulic acids in the study as potential stabilizers of molecules. The results showed that for the extraction of anthocyanins, 60% ethanol acidified to pH 2.0 the most effective compound together with the co-pigmentation of anthocyanins occurs complexation of caffeic, p-coumaric and ferulic acids. The caffeic acid did not have effect in the increase of the half life time of the anthocyanins in none of the studied conditions the same it was observed when the p-coumaric acid was used. However when it was used the ferulic acid an increase of the half life time was observed.

Key-words: grape Bordeaux; caffeic acid; p-coumaric acid; ferulic acid; extraction of anthocyanins.

Referências

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 Technology**, v. 40, p. 594–599, 2007.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. **Food Chemistry**, v.58, p.103-109, 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00222-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00222-1)

BROUILLARD, R.; DUBOIS, J. E. Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acidic media. **Journal of the American Chemical Society**, v.99, n. 05, p.1359-1364, 1977. <http://dx.doi.org/10.1021/ja00447a012>

DANGLES, O.; SAITO, N.; BROUILLAR, R. Anthocyanin Intramolecular copigment effect. **Phytochemistry**, v. 34, n. 01, p. 119-124, 1993. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90792-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90792-1)

DAVIES, A. J.; MAZZA, G. Copigmentation of simple acylated anthocyanins with colourless phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 05, p. 716–720, 1993. <http://dx.doi.org/10.1021/jf00029a007>

DIMITRIC-MARKOVIS, J. M. D.; PETRANOVIC, N. A.; BARANAC, J. M. Spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5530-5536, 2000. <http://dx.doi.org/10.1021/jf000038v>

FALCÃO, L. D. **Estabilidade de antocianinas extraídas de uvas Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) em solução tampão, bebida isotônica e iogurte**. Florianópolis, 2003, 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos).- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos- Universidade Federal de Santa Catarina.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 182-205. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398909527503>

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical review of food science and nutrition**, v. 28, n. 04, p. 273-314, 1989.

GRIS, E. F.; FERREIRA, E. A.; FALCÃO L. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Caffeic acid copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts in model systems. **Food Chemistry**, v. 100, n. 03, p. 1289–1296, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.01>

KUSKOSK, 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. 04, p. 1283-1287, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000400037>

LEES, D. H.; FRANCIS, F. G. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortscience**, v 7, n. 01, p. 83-84, 1972.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: Composição e estabilidade. **Boletim do CEPPA**, v. 24, n. 01, p. 59-82, 2006.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS P. **Anthocyanin as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 163-180.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Florida: Boca Raton, CRC Press. p. 363, 1993.

PROVENZI, G. **Estabilidade de antocianinas adicionadas de α , β e γ ciclodextrina e aplicação em gelatina**. Florianópolis, 2001, 73 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos).- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos- Universidade Federal de Santa Catarina.

ROMBALDI, C. V.; FERRI, V. C.; BERGAMASQUI, M.; LUCHIETTA, L.; ZANUZO, M. R. Produtividade e qualidade de uva, cv. Bordô (ives), sob dois sistemas de cultivo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 04, p. 519-521, 2004.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal Beauv)**. Campinas, 1991, 138p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos- Universidade Estadual de Campinas,

TECCHIO, F. M.; MIELE, A.; RIZZON, L. A. Composição físico-química do vinho Bordô de Flores da Cunha, RS, elaborado com uvas maturadas em condições de baixa precipitação. **Ciência Rural**, v. 37, n. 05, p. 1480-1483, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000500044>

VALDUGA, E.; LIMA L.; PRADO, R.; PADILHA, F. F. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva “Isabel” (*Vitis labrusca*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 05, p.1568-1574, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000500032>

Submetido em 14 set. 2011, Aceito para publicação em 16 ago. 2012.