

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

**Quantificação de Alguns Compostos Bioativos das Pitayas de
Polpas Branca e Vermelha (*Cereus undatus*, Sinonímia:
Hylocereus guatemalensis, *H.undatus*)**

Luzimary de Jesus Ferreira Godinho Rocha

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS COMPOSTOS BIOATIVOS
DAS PITAYAS DE POLPAS BRANCA E VERMELHA
(*CEREUS UNDATUS*, SINONÍMIA: *HYLOCEREUS
GUATEMALENSIS*, *H. UNDATUS*)**

LUZIMARY DE JESUS FERREIRA GODINHO ROCHA

Sob a Orientação do Dr.
Ronoel Luiz de Oliveira Godoy

e Co-orientação da Profa. Dra.
Natilene Mesquita Brito

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

Seropédica, RJ
Julho de 2012

634.6
R672q
T

Rocha, Luzimary de Jesus Ferreira Godinho, 1972-

Quantificação de alguns compostos bioativos das pitayas de polpas branca e vermelha (*Cereus undatus*, sinonímia: *Hylocereus guatemalensis*, *H. undatus*) / Luzimary de Jesus Ferreira Godinho Rocha - 2012.

67 f.: il.

Orientador: Ronoel Luiz de Oliveira Godoy.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 45-54.

1. Frutas tropicais - Teses. 2. Pitayas - Teses. 3. Polpa de frutas - Análise - Teses. 4. Vitamina C - Teses. 5. Antioxidantes - Teses. 6. Tecnologia de alimentos - Teses. I. Godoy, Ronoel Luiz de Oliveira, 1951-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

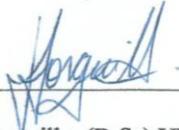
LUZIMARY DE JESUS FERREIRA GODINHO ROCHA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

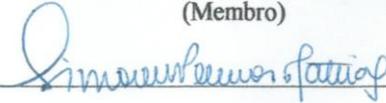
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/07/2012.



Ronoel Luiz de Oliveira Godoy (D.Sc) Embrapa - CTAA
(Orientador)



Helena de Souza Torquillo (D.Sc) UFRJ – Professor E.B.T.T/IFRJ
(Membro)



Simone Pereira Mathias (D.Sc) UFRRJ
(Membro)

“No meio da dificuldade, está a oportunidade”.

Albert Einstein

Aos meus dois amores: Hermenegildo e Lucas.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor e Deus, Jesus Cristo, sem Ele não conseguiria chegar até aqui.

À minha querida mãe, Graça Godinho, exemplo de coragem e resignação.

Aos meus irmãos pela ajuda nos momentos difíceis.

Ao meu esposo e companheiro, Hermenegildo, pelo carinho, paciência e incentivo para conclusão deste trabalho.

Ao meu filho Lucas, minha alegria nesta vida.

À minha amiga Vânia Mondego pelo apoio no Projeto desta dissertação.

Aos companheiros do Mestrado Interinstitucional IFMA/UFRRJ, em especial às amigas Ana Maria e Gilda pela motivação e solidariedade nos momentos que mais precisei.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy pelos conhecimentos repassados durante a execução deste trabalho.

À Carolina Passos, Ana Paula, Raysa, Ana Cristina, Manuela e Luciana pelo apoio durante as análises no Laboratório de Cromatografia Líquida (CLAE) da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade de participar deste mestrado, em proporcionar tão grata capacitação.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos pela disponibilidade dos laboratórios para execução das análises em CLAE, U.V e demais determinações.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

RESUMO

ROCHA, Luzimary de Jesus Ferreira Godinho. **Estudo de alguns compostos bioativos das pitayas de polpas branca e vermelha (*Cereus undatus*, Sinonímia: *Hylocereus guatemalensis*, *H.undatus*)**. 2012. 55p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

A pitaya ou *Cereus undatus*, sinonímia: *Hylocereus guatemalensis*, *H.undatus* é uma fruta exótica e de consumo ligeiramente crescente no nosso país. As atribuições funcionais dadas a essa fruta, pelo senso comum, incita ao estudo das suas características físicas, químicas e microbiológicas. Deve-se ressaltar que as frutas são fontes primárias de várias vitaminas e outros compostos bioativos, como por exemplo, os compostos fenólicos, fibras e açúcares. A ingestão desses compostos aumenta a imunidade dos indivíduos, induzindo a melhoria dos níveis de saúde, rendimento físico e mental. Os valores de referência desses nutrientes para a pitaya, ainda, são desconhecidos do grande público, por ser esta uma fruta de consumo de uma classe abastada, por seu preço ser demasiadamente alto para os nossos padrões brasileiros. As matrizes em alimentos são muito complexas, dadas as suas características intrínsecas. Diante disso, várias são as técnicas utilizadas para determinações analíticas de compostos bioativos, dentre elas, têm-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e espectrofotometria U.V visível. O objetivo deste trabalho é quantificar a presença de vitamina C, antocianinas e açúcares nas pitayas de polpas branca e vermelha por CLAE, bem como, determinar, ainda, o teor de atividade antioxidante pelo método de captura do radical 2,2'- azinobis (3-etilbenzenotiazolina-6-ácido sulfônico – ABTS), teores de sólidos solúveis (°Brix) determinado em um refratômetro digital, além da acidez e pH. O teor de sólidos solúveis encontrados pode confirmar que as amostras de pitaya vermelha têm maiores teores de açúcares que a de polpa branca. Quanto ao valor de pH e acidez total titulável (g de ácido cítrico/100g de fruta), precisam, ainda, ser monitorados e analisados, possivelmente, sob condições de cultivo controlado desse alimento por se tratar de uma fruta exótica e de recente consumo no nosso país. Quanto aos resultados das antocianinas, por se tratar de um corante que degrada rapidamente, a sua presença mostrou-se irrisória, sendo encontrada somente no halo da pitaya de polpa vermelha, necessitando de mais análises e padronizações em condições mais específicas de monitoramento. Houve baixa atividade antioxidante nas amostras analisadas, bem como o seu teor de vitamina C, esses valores encontrados devem-se, primeiramente, ao tempo de armazenamento, que diminui os teores desses analitos.

Palavras-chave: Pitayas. CLAE. Bioativos.

ABSTRACT

ROCHA, Luzimary de Jesus Ferreira Godinho. **Study of some bioactive compounds pitayas of white and red pulp (*Cereus undatus*, Synonymy: *Hylocereus guatemalensis*, *H.undatus*)**. 2012. 55p. Dissertation (Master Science in Food Tecnology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

The pitaya or *Cereus undatus* pitaya or, synonymy: *Hylocereus guatemalensis*, *H.undatus* is exotic fruit consumption and slightly increasing in our country. The functional assignments given to this fruit, common sense encourages the study of their physical, chemical and microbiological. It should be noted that the fruits are primary sources of several vitamins and other bioactive compounds, for example, phenolic fibers, and sugars. The intake of these compounds increases the immunity of individuals, leading to improved levels of health, physical and mental performance. The reference values for these nutrients pitaya, also, are unknown to the general public, as this is a fruit intake of a wealthy class, for its price is too high for our Brazilian standards. In food matrices are very complex, given its inherent characteristics. Thus, there are several techniques used for quantitative analysis of bioactive compounds, among them, have a High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and UV-visible spectrophotometry. The objective of this study is to quantify the presence of vitamin C, anthocyanins and sugars in pitayas white and red pulp by HPLC, as well as to determine, although the content of antioxidant activity by the method of capturing the radical 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzenothiazol-6-sulfonic acid - ABTS), soluble solids (° Brix) is determined in a digital refractometer, as well as acidity and pH. The soluble solids found can confirm that the samples of red pitaya have higher sugar content than the white pulp. The pH and total acidity (g citric acid/100g fruit), should also be monitored and analyzed, possibly under conditions of controlled cultivation of this food because it is an exotic fruit and consumption in our country recently. As for the results of anthocyanins, because it is a dye that rapidly degrades, its presence became insignificant, being found only in the halo of red pulp pitaya, requiring further analysis and monitoring standards in a more specific. There was a low antioxidant activity in the samples, as well as its content of vitamin C, these values should be found, first, the storage time, which decreases the levels of these analytes.

Keywords: Pitayas. HPLC. Bioactive.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Fontes de alguns alimentos funcionais	09
Tabela 2	Classe de compostos fenólicos em plantas	10
Tabela 3	Teores de Ácido ascórbico obtido através de CLAE em matrizes vegetais	35
Tabela 4	Valores de pH e acidez titulável (média aritmética)	36
Tabela 5	Valores de graus Brix das amostras de pitayas de polpas branca e vermelha	37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Composição química da pitaya	20
Quadro 2	Dados para o preparo das soluções para curva-padrão do Trolox	38
Quadro 3	Leitura dos valores de concentração e absorvância para curva padrão de Trolox	39
Quadro 4	Valores correspondentes à pitaya de polpa branca	39
Quadro 5	Valores correspondentes à pitaya de polpa vermelha	40
Quadro 6	Valores correspondentes à pitaya de polpa branca (leitura das triplicatas)	40
Quadro 7	Valores correspondentes à pitaya de polpa vermelha (leitura das triplicatas)	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Antocianinas	10
Figura 2	Esqueleto básico das antocianinas encontradas nos alimentos	11
Figura 3	Representa a estrutura das antocianinas e as posições de glicosilação e acilação com exemplos de açúcares e ácidos mais comumente encontrados na natureza	12
Figura 4	Estrutura do ácido ascórbico	13
Figura 5	Acidez das hidroxilas na molécula do ácido ascórbico	14
Figura 6	Estrutura química da vitamina A (retinol)	16
Figura 7	Fórmulas da glicose, frutose e galactose	17
Figura 8	Pitaya vermelha de polpa branca	18
Figura 9	Pitaya amarela	19
Figura 10	Operações tipicamente envolvidas durante o preparo da amostra para análise cromatográfica Pitayas de polpas branca e vermelha in natura	22
Figura 11	Esquema simplificado de um espectrômetro de massa	24
Figura 12	Pitayas de polpa branca e vermelha in natura	25
Figura 13	Fluxograma da análise de açúcares em CLAE	27
Figura 14	Fluxograma da análise de antocianinas em CLAE	28
Figura 15	Fluxograma para análise de vitamina C em CLAE	29
Figura 16	Fluxograma para análise de atividade antioxidante	29
Figura 17	Espectrômetro de massas Synapt , marca Waters®	31
Figura 18	Fluxograma da análise do preparo das amostras e coleta dos picos para espectrometria de massas em pitayas de polpas branca e vermelha	32
Figura 19	Cromatograma padrão (frutose/ glicose/ sacarose)	33
Figura 20	Pitaya de polpa branca – cromatograma da amostra	33
Figura 21	Cromatograma padrão de vitamina C	34
Figura 22	Cromatograma da amostra de pitaya de polpa branca	34
Figura 23	Cromatograma da amostra de pitaya de polpa vermelha	35
Figura 24	Gráfico com os teores de Ácido ascórbico obtido através de CLAE em matrizes vegetais	36
Figura 25	Identificação (setas) da região chamada de Halo nas pitayas de polpas vermelha e branca, respectivamente	37
Figura 26	Espectro U.V Visível retirado do cromatograma do halo da pitaya de polpa vermelha	38
Figura 27	Gráfico da curva padrão de Trolox	39
Figura 28	Gráfico da equação da reta – pitaya de polpa branca	41
Figura 29	Gráfico da equação da reta – pitaya de polpa vermelha	41
Figura 30	Cromatograma do halo da pitaya de polpa branca	42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
2	OBJETIVOS	03
2.1	Geral	03
2.2	Específicos	03
3	REVISÃO DE LITERATURA	04
3.1	Alimentos Funcionais	04
3.1.1	Origem	04
3.1.2	Alegação de propriedade funcional	05
3.1.3	Alegação de propriedade de saúde	05
3.1.4	Definição	05
3.1.4.1	Probióticos e prebióticos	07
3.1.4.2	Alimentos sulfurados e nitrogenados	07
3.1.4.3	Compostos Fenólicos	07
3.1.5	Classificação	08
3.1.6	Fontes de alguns alimentos funcionais	09
3.2	Antocianinas	09
3.3	Vitamina C	13
3.4	Antioxidantes	15
3.5	Açúcares	16
3.6	A Espectrofotometria e o Método da Capacidade Antioxidante Trolox Equivalente – TEAC	18
3.7	Pitaya	18
3.7.1	A produção, consumo e mercado da pitaya no Brasil	20
3.8	A Técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	21
3.9	pH	23
3.10	Sólidos Solúveis (SS) ou Grau Brix em Alimentos	23
3.11	Acidez Total Titulável	23
3.12	A técnica de espectrometria de massas (ES) ou Mass Spectrometry (MS)	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	Matéria – Prima	25
4.1.1	Material	25
4.2	Quantificação de Açúcares	26
4.3	Quantificação de Antocianinas	27
4.4	Quantificação de Vitamina C	28
4.5	Quantificação de Antioxidantes	29
4.5.1	Determinação da capacidade antioxidante trolox equivalente (TEAC-Trolox Equivalente Antioxidante Capacity)	30
4.6	Determinação de pH	30
4.7	Determinação de Acidez Total Titulável	30
4.8	Determinação de Teor de Sólidos Solúveis (SS) ou °Brix	31
4.9	Espectrometria de massas- preparo do extrato para coleta dos picos	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	33

5.1	Açúcares – Cromatograma da Pitaya de Polpa Branca	33
5.2	Açúcares – Cromatograma da Pitaya de Polpa Vermelha	34
5.3	Vitamina C	34
5.3.1	Cromatograma padrão de vitamina C	34
5.3.2	Cromatograma da pitaya de polpa branca	34
5.3.3	Cromatograma da pitaya de polpa vermelha	35
5.4	Acidez Titulável e pH	36
5.5	Sólidos Solúveis (°Brix)	37
5.6	Antocianinas	37
5.7	Atividade Antioxidante Trolox Equivalent (TEAC- Trolox Equivalent Antioxidante Capacity)	37
5.7.1	Construção da curva de calibração – Trolox em etanol P.A. 95%	38
5.8	Análise da Espectrometria de massas	42
6	CONCLUSÃO	43
7	SUGESTÕES	44
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
	ANEXO	55

1 INTRODUÇÃO

A demanda mundial por alimentos, atualmente, favorece o estudo e cultivo de outras frutas, algumas são conhecidas somente em comunidades totalmente isoladas. A pitaya ou *Cereus undatus*, sinonímia: *Hylocereus guatemalensis*, *H.undatus* (ORTIZ; LIVERA, 1995) é uma fruta exótica e seu consumo é crescente no nosso país. As atribuições funcionais dadas a essa fruta, pelo senso comum, incita ao estudo dos seus nutrientes dessa cactácea. O uso da pitaya é primeiramente como alimento, sendo consumida na forma fresca ou em bebidas refrescantes. Existe, ainda, o uso medicinal, no combate à gastrite, como laxante, fortificante, entre outros. O aumento no consumo desta fruta, desperta o seu interesse na indústria alimentícia, dada também, como matéria-prima de corantes alimentícios usados em alimentos de baixo pH e sua ação antioxidante. Um alimento colorido aguça o paladar, afinal comemos primeiramente com os olhos e as antocianinas são, particularmente, realçadas com cores que variam de vermelho rubro até o roxo, bem como azul e suas nuances.

Os alimentos funcionais podem ser descritos como aqueles que trazem, além dos nutrientes, substâncias que favorecem todo o sistema imunológico, psíquico e fisiológico de quem o consome. Tal denominação agrega muito mais que só a função de nutrir. Essa nova denominação de alimento surgiu no Japão na década de 1980, promovido pelo governo japonês, através de um programa com o objetivo de desenvolver alimentos saudáveis para uma população envelhecida, porém com grande expectativa de vida (COLLI, 1998).

Segundo Pollonio (2000) esses produtos podem variar de nutrientes isolados, produtos de biotecnologia, suplementos dietéticos, alimentos construídos geneticamente além daqueles processados e derivados de plantas.

Os compostos bioativos dos alimentos funcionais envolvem: os fitoquímicos que são substâncias com potencial capaz de modificar o metabolismo humano favorável na prevenção de doenças degenerativas (ADA, 1999) e são encontrados em frutas e verduras, como laranja, limão, tomate, cebola, couve-flor, dentre outras; os terpenóides, encontrados nos alimentos verdes, soja e outros grãos, com grande atividade antioxidante, como por exemplo, os carotenóides, além dos fitosteróis que são semelhantes ao colesterol e competem com sua absorção no intestino, diminuindo o nível de LDL ou colesterol de baixa densidade (GERMAN; DILLARD, 2000).

Ressalte-se, ainda, os compostos nitrogenados, que protegem contra cânceres, ativam as enzimas de detoxificação do fígado (MITHEN et al., 2000). Os produtos prebióticos e probióticos que auxiliam na motilidade intestinal, melhorando o seu funcionamento.

As antocianinas são solúveis em água, facilitando a sua incorporação a sistemas ditos aquosos, existem amplas variações na natureza, não causam doenças, qualidades estas que as favorecem como ótimos corantes naturais.

O interesse nas antocianinas, açúcares e vitamina C em frutas é muito premente, nos últimos anos, já que vários estudos científicos têm demonstrado que existe um grande potencial antioxidante nesses alimentos. Segundo alguns estudos, a pitaya é um fruto com alto valor vitamínico e nutricional que apresenta um teor de compostos fenólicos, principalmente de pigmentos antociânicos que produzem uma coloração do vermelho primário ao roxo nos alimentos. Deve-se ressaltar que a propriedade funcional de um alimento perpassa por vários fatores, tais como: benefícios no metabolismo, combater os radicais livres, desenvolvimento e manutenção dos organismos, entre outros fatores.

Os aspectos toxicológicos dos antioxidantes têm sido uma das áreas de maior controvérsia nos debates sobre a segurança dos aditivos alimentares. Resultados de estudos realizados a longo prazo nos últimos anos demonstraram que compostos como BHA e BHT, que são antioxidantes sintéticos podem produzir tumores em animais experimentais. O que

torna maior a procura por produtos naturais, como por exemplo, a ação da vitamina C (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

A técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE é um dos mais promissores métodos analíticos, tanto qualitativamente quanto quantitativamente. As razões para isso são simples: sua adaptabilidade para determinações quantitativas com boa sensibilidade e a possibilidade de separar espécies não voláteis e termicamente instáveis. Têm-se o uso da espectrofotometria no U.V visível, como outra técnica de determinação de atividade antioxidante, utilizando o método de captura do radical ABTS 2,2'- azinobis (3-etilbenzenotiazolína-6-ácido sulfônico). A técnica de espectrometria de massas permite identificar uma substância através de ionização e posterior análise e detecção em formas de picos com valores pré-estabelecidos, favorecendo a sua massa molecular. O objetivo deste trabalho é quantificar, caso exista, a presença de alguns compostos bioativos como, por exemplo, antocianinas, vitamina C e açúcares nas Pitayas de polpas branca e vermelha por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e espectrometria de massa, como também determinar os teores de sólidos solúveis (°Brix), acidez e pH.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Quantificar a presença de alguns compostos bioativos como, por exemplo, antocianinas, vitamina C e açúcares nas pitayas de polpas branca e vermelha por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), como também determinar os teores de sólidos solúveis (°Brix), acidez total titulável em termos de g/100g de ácido cítrico e pH.

2.2 Específicos

- a) Caracterizar as antocianinas em pitaya (*Hylocereus guatemalensis*, *H. undatus*), na sua entrecasca através da CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência);
- b) Identificar, por Espectrometria de Massa ou CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) através de comparação com padrões, as antocianinas presentes nas pitayas de polpa branca e vermelha, caso sejam identificadas;
- c) Quantificar a vitamina C, presente nas pitayas de polpa branca e vermelha, através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;
- d) Determinar os teores de açúcares nas pitayas de polpa branca e vermelha através da CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência);
- e) Quantificar os teores de atividade antioxidante presentes na pitayas de polpa branca e vermelha, através do método TEAC – Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, Capacidade de Atividade Antioxidante Trolox Equivalente;
- f) Determinar os valores de pH e acidez titulável das pitayas de polpa branca e vermelha, através do titulador automático Metrohm® 785 DMP – Titrino;
- g) Determinar os teores de sólidos solúveis (°Brix) das pitayas de polpas branca e vermelha.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Alimentos Funcionais

Naturalmente, todos os alimentos são funcionais, uma vez que nos proporcionam sabor, aroma e valor nutritivo. Entretanto, nas últimas décadas, o termo funcional está sendo aplicado a alimentos com uma característica diferente, a de proporcionar um benefício fisiológico adicional, além das qualidades nutricionais básicas encontradas.

3.1.1 Origem

Historicamente, a utilização de certos alimentos na redução do risco de doenças é considerada a milhares de anos. Hipócrates, há cerca de 2500 anos, já pregava isso em uma de suas célebres frases que dizia: “faça do alimento o seu medicamento” (SALGADO, 2005). No entanto, somente no final deste último século, na década de 90, é que começou haver maior interesse por esse assunto, foi quando o termo “alimento funcional” passou a ser adotado. As pesquisas se intensificaram e o conceito de alimento funcional se tornou mais conhecido do público leigo e também de pesquisadores que até então não estavam envolvidos com estudos nessa área. O conceito de alimentos funcionais foi promovido em 1984, por cientistas japoneses que estudaram as relações entre aspectos nutricionais, sensorial, satisfação de fortificação, e modulação de sistemas fisiológicos. Em 1991, o Ministério da Saúde introduziu normas para a aprovação de uma categoria de alimentos específicos relacionados com a saúde chamados FOSHU (“Foods for Specified Health Use” ou Alimento Especificado para Uso da Saúde), que incluía o estabelecimento de alegações de saúde específicas para esse tipo de alimento.

O Japão foi o pioneiro na produção e comercialização de alimentos funcionais. Conhecidos, os alimentos funcionais japoneses sustentam um selo de aprovação do Ministério da Saúde e Bem Estar. A lei japonesa foi elaborada em junho de 1997, mas não é a única atualmente. Hoje, vários países contam com uma legislação específica. No Brasil as regras foram instituídas a partir de 1999. O FDA (Food and Drug Administration) regula os alimentos funcionais baseado no uso que se pretende dar ao produto, na descrição presente nos rótulos ou nos ingredientes do produto. A partir destes critérios, o FDA classificou os alimentos funcionais em cinco categorias: alimento, suplementos alimentares, alimento para usos dietéticos especiais, alimento-medicamento ou droga (NOONAN, 2004).

No Brasil, a indústria deve seguir a legislação do Ministério da Saúde e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que estabelecem normas e procedimentos para registro de alimentos e/ou ingredientes funcionais.

A obtenção do registro de um alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de promoção da saúde deve ser formulada um relatório técnico científico bastante detalhado, comprovando os benefícios e a segurança do uso deste alimento. A maior atenção que tem sido dada a este tipo de informação ocorre pelo fato dos consumidores aumentarem a procura por eles (MONTEIRO; MARIN, 2011).

A classificação de uma substância como alimento funcional, bem como reescrever sobre o assunto segue linhas tênues dentre outros temas. Primeiramente, trataremos sobre as diversas definições de alimentos funcionais, desde a sua manifestação no Japão na década de 1990. Algumas tão profundas, que são quase uma prescrição médica. Consideramos as principais tendências sobre esses nutrientes, dentre elas, destaca-se a definição da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), na Portaria nº 398 de 30/04/99:

[...] todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos á saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica. (BRASIL, 2010, p.3).

Estas resoluções fazem distinção entre alegação de propriedade funcional e alegação de propriedade de saúde, como segue (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLUCKE, 2005):

3.1.2 Alegação de propriedade funcional: é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que uma substância (nutriente ou não) tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano.

3.1.3 Alegação de propriedade de saúde: é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre os alimentos ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde. Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou prevenção de doenças.

Existe uma tendência norte-americana de caracterizar como alimentos funcionais, aquelas substâncias, ditas protetoras, como os flavonóides (principalmente as antocianinas), resveratrol, além de suplementos alimentares, como aminoácidos e vitaminas.

Os alimentos funcionais são conhecidos, também, pela expressão nutracêuticos, pois segundo estudos, eles além de oferecer benefícios medicinais, conseguem prevenir e tratar doenças. Outra forma de citá-los é como “designer foods” ou alimentos planejados, envolvendo a engenharia genética nesse aspecto para designar as substâncias preventivas que os mesmos contêm. Há uma denominação que considera os alimentos funcionais, como agentes quimiopreventivos, pois apresentam potencial inibidor de cânceres, de forma primária (antes da manifestação da doença) e secundária (após a manifestação do tumor).

Os chamados “designer foods” não podem ser considerados como suplementos alimentares, pois não irá somente complementar a dieta, mas sim adequá-la para beneficiar de forma mais abrangente o indivíduo, ou seja, os alimentos irão “planejar” a melhor estrutura para que o indivíduo tenha saúde. Alguns alimentos com essas propriedades: *psyllium*, cítricos, alho, linhaça, cereais, ácidos graxos poliinsaturados, prebióticos e probióticos, etc. (CÂNDIDO; CAMPOS, op. Cit; PADILHA; PINHEIRO, 1994).

Deve-se considerar que as mudanças ocorridas nos dois últimos séculos no nosso planeta, atingiram principalmente os hábitos alimentares das pessoas. Muitas procuras sobre retardar o envelhecimento das células, dietas milagrosas para diminuir as taxas glicêmicas, ingestão de alimentos, até então, desconsiderados, como as sementes de quinoa, amaranto, entre outras. Isso é reflexo da necessidade de mudança, do ser humano ter mais clareza sobre o que se ingerir.

Naturalmente, todos os alimentos são funcionais, uma vez que nos proporcionam sabor, aroma e valor nutritivo (HASLER, 1998). Entretanto, nas últimas décadas, o termo funcional está sendo aplicado a alimentos com uma característica diferente, a de proporcionar um benefício fisiológico adicional, além das qualidades nutricionais básicas encontradas.

3.1.4 Definição

Definir alimentos funcionais, ainda, é uma tarefa difícil, pois, suas inter-relações com as atividades metabólicas são complexas. No entanto, existem alguns termos para caracterizá-los. Segundo Monteiro e Marin (2011), os alimentos funcionais devem apresentar propriedades benéficas além das nutricionais básicas, sendo apresentados na forma de alimentos comuns.

Tais alimentos são consumidos em dietas convencionais, mas demonstram capacidade

de regularizar funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças, como hipertensão, diabetes, neoplasias, osteoporose e coronariopatias (SOUZA, 2003).

Os alimentos funcionais são todos os alimentos ou bebidas que, quando consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis, como vitaminas antioxidantes, fibras, etc (CÂNDIDO, 2005).

Os alimentos funcionais são alimentos que provêm à oportunidade de combinar produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, como estratégia para consistentemente corrigir distúrbios metabólicos, resultando em redução dos riscos de doenças e manutenção da saúde (MORAES; COLLA, 2006).

De acordo com Souza et al (2003), os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados de dois modos: quanto à fonte de origem (vegetal ou animal) ou quanto aos benefícios que oferecem, atuando em seis áreas do organismo:

- Sistema gastrointestinal;
- Sistema cardiovascular;
- Metabolismo de substratos;
- Crescimento e desenvolvimento;
- Diferenciação celular;
- Comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes.

Os alimentos funcionais apresentam as seguintes características segundo Roberfroid (2002):

- Devem ser alimentos convencionais e serem consumidos na dieta usual;
- Devem ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- Devem ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental;
- A alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico;
- Pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido removido;
- Pode ser um alimento em que a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada;
- Pode ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada.

Existe, ainda, outro termo muito usual sobre esses tipos de alimentos, que é o nutracêutico. Este termo surgiu na década de 1989 para diferenciar os alimentos funcionais dos medicamentos (ANJO, 2004).

Os nutracêuticos diferenciam dos alimentos funcionais, pois são alimentos ou parte de um alimento que proporciona benefícios médicos e de saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento da doença. Tais produtos podem abranger desde os nutrientes isolados, suplementos dietéticos na forma de cápsulas e dietas até os produtos benéficamente projetados, produtos herbais e alimentos processados tais como cereais, sopas e bebidas (ROBERFROID, 2002).

Ainda segundo Roberfroid (2005) os nutracêuticos podem ser classificados como:

- Fibras dietéticas;
- Ácidos graxos poli-insaturados;
- Proteínas;
- Peptídeos;

- Aminoácidos ou cetoácidos;
- Minerais;
- Vitaminas antioxidantes;
- Outros antioxidantes (glutathione, selênio).

O alvo dos nutracêuticos é significativamente diferente dos alimentos funcionais, por várias razões:

- Enquanto a prevenção e o tratamento de doenças (apelo médico) são relevantes aos nutracêuticos, apenas a redução do risco da doença, e não a prevenção e tratamento da doença estão envolvidos com os alimentos funcionais;

- Enquanto os nutracêuticos incluem suplementos dietéticos e outros tipos de alimentos, os alimentos funcionais devem estar na forma de um alimento comum.

Alguns desses ingredientes são usualmente, chamados de alimentos funcionais, são eles:

3.1.4.1 Probióticos e prebióticos: funcionam como bioprotetores e bioestimulantes de diversas funções metabólicas, são micro-organismos vivos que podem ser agregados como suplementos na dieta, afetando de forma benéfica o desenvolvimento da flora microbiana intestinal. Podem ser utilizados na prevenção das infecções entéricas e gastrointestinais (REIG; ANESTO, 2002). Há uma definição internacional sobre essas substâncias: os probióticos são micro-organismos vivos, que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (SAAD, 2006).

Os iogurtes e leites fermentados são os alimentos mais comuns a serem suplementados com probióticos. Os leites não fermentados, sucos e outros alimentos também podem ser suplementados com probióticos (SOUZA et al., 2003). Os prebióticos são aquelas fibras insolúveis que sofrem um processo de fermentação nos probióticos. São de origem vegetal: cebola, alho, banana, tomate, aveia, chicória, mel, trigo, aspargos, alcachofra, cerveja e alho-poró. Tais fibras ajudam o intestino a absorver, somente, as substâncias necessárias, eliminando excessos de glicose e outras gorduras, como o colesterol (MONTEIRO; MARIN, 2011).

3.1.4.2 Alimentos sulfurados e nitrogenados: tais alimentos são compostos orgânicos usados na proteção contra a carcinogênese e mutagênese. As propriedades anticarcinogênicas dos vegetais crucíferos, como repolho, brócolis, rabanete, palmito e alcaparra, são atribuídas ao seu conteúdo relativamente alto de glicosilatos (HASLER, 1998). Os isotiocianatos e indóis são compostos antioxidantes que estão presentes em crucíferas, tais como brócolis, couve-flor, couve-de-bruxelas, couve e repolho. Esses compostos inibem a mutação do DNA, que predispõe algumas formas de neoplasia (SAAD, 2006).

3.1.4.3 Compostos fenólicos: os flavonóides compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana. No entanto, estes compostos possuem uma série de propriedades, entre elas, por exemplo, atuam como antioxidantes.

Existe o conhecido “paradoxo francês”, uma aparente compatibilidade de uma dieta com alta ingestão de gordura e com uma baixa incidência de coronariopatia aterosclerótica, atribuído à presença de compostos fenólicos no vinho tinto, com propriedades antioxidantes que inibem a oxidação das LDLs, evitando indiretamente os infiltrados de lipídios no interior das artérias (AMARAL, 1995).

Ainda segundo Monteiro e Marin (2011) os flavonóides englobam uma classe importante de pigmentos naturais encontrados com frequência na natureza, unicamente em vegetais. As substâncias fenólicas se caracterizam por possuir um grupo funcional hidroxila

(OH) ligada a um anel benzênico. Os compostos fenólicos são inumeráveis e a partir da molécula simples de fenol pode derivar substâncias com diferentes níveis de complexidade, que podem ser classificadas em várias famílias e grupos.

Os compostos fenólicos são divididos em: fenóis simples, fenóis compostos e os flavonóides. As antocianinas são flavonóides, cuja coloração varia entre o azul e a púrpura, as antoxantinas (coloração amarela), as catequinas e as leucoantocianinas que são incolores, mas que se transformam facilmente em pigmentos pardos. Estas duas últimas são comumente denominadas taninos. As antoxantinas e flavonas são derivadas do fenil-2-benzopiranos e aparecem dissolvidas nas células de vegetais. Usualmente são amarelo-claros ou incolores estando presentes em polpas de frutas claras ou aquelas coloridas de verde com clorofila ou vermelho, azul ou púrpura com antocianinas (MONTEIRO; MARIN, 2011).

O potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade dele como um doador de elétrons ou hidrogênio, capacidade de deslocar ou estabilizar um elétron desemparelhado, reatividade com outro antioxidante e reatividade com oxigênio molecular. Outros efeitos fisiológicos da ação de compostos antioxidantes seriam sua atuação como antineoplásicos e anti-mutagênicos sempre considerando que estes problemas ocorram por ação de radicais livres. Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, como por exemplo, em alimentos ricos em vitamina E. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (MONTEIRO; MARIN, 2011).

Uma subclasse dos flavonóides são as isoflavonas, as quais têm sido um componente da dieta de certas populações durante muitos séculos, como os asiáticos, por exemplo, ao consumir soja que é rica nessa substância. O consumo da soja tem sido considerado benéfico, com um efeito potencialmente protetor contra um número de doenças crônicas (ANJO, 2004).

Ainda de acordo com Anjo (2004) não houve indicação de risco à saúde por causa do consumo de soja ou isoflavonas da soja como parte regular da dieta, ao contrário, os estudos epidemiológicos das últimas décadas sugeriram efeitos protetores destes compostos contra um número de doenças crônicas, incluindo doença cardíaca coronária, câncer de próstata, diabetes, osteoporose, deficiência cognitiva, doenças cardiovasculares e sintomas da menopausa. A soja apresenta estrutura e atividade semelhante ao estrógeno humano e são conhecidas como fitoestrógenos, podendo proteger o organismo contra doenças do coração e possivelmente contra câncer de mama pela ação de estrógenos bloqueadores.

Pesquisas recentes têm mostrado que dietas ricas em soja ajudam a reduzir os níveis de colesterol (LDL) no sangue, de 12% a 15%, pois as isoflavonas da soja são convertidas, no intestino, a fitoestrógenos que podem ajudar a reduzir o LDL (SOUZA et al., 2003). As isoflavonas são encontradas em legumes, principalmente em grãos de soja. Embora haja uma grande variabilidade de composição de isoflavonas entre os grãos de soja e produtos alimentícios baseados em soja, a maioria das fontes dietéticas contém uma mistura de derivados, baseados em três isoflavonas agliconas: genisteína, daidzeína e gliciteína.

Os alimentos funcionais são considerados da chamada 3ª Geração, sendo a 1ª de alimentos “light” e a 2ª alimentos enriquecidos. Existe uma demanda mundial para a descoberta de alimentos que estejam incluídos nesta categoria de funcionais (Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, 2007).

3.1.5 Classificação

Os alimentos funcionais estão divididos em quatro categorias (CRAVEIROS;

CRAVEIROS, 2003):

- Alimentos que tradicionalmente apresentam benefícios para a saúde em relação a outros similares. Por exemplo: hortaliças, obtidas por técnicas adequadas de cultivo;
- Alimentos processados que tenham sofrido algum tipo de modificação. Por exemplo: alimento com teor reduzido de gordura ou enriquecimento com antioxidantes;
- Ingredientes especificamente incorporados a alimentos. Por exemplo: fibras e organismos probióticos;
- Novos alimentos produzidos por biotecnologia ou métodos diferenciados. Por exemplo: ovos enriquecidos com ácido graxo poliinsaturado ômega-3.

3.1.6 Fontes de alguns alimentos funcionais

Os alimentos funcionais derivam das mais diversas fontes. A Tabela 1 apresenta, de forma resumida, o composto ativo, efeito fisiológico e principais fontes desses alimentos.

Composto ativo	Efeito	Fonte
Terpenóides (carotenóides)	Atividade antioxidante e anticancerígena (útero, próstata, seio, cólon, reto e pulmão)	Melancia, mamão, damasco, pêssego, manga, tomate, cenoura, brócolis, inhame abóbora, alimentos de coloração alaranjada e vermelha em geral
Fitosteróis	Redução dos níveis de colesterol total e LDL	Óleos vegetais, sementes, nozes e vegetais.
Antocianinas	Atividade antioxidante, proteção contra mutagênese	Amora, framboesa, mirtilo, maçã
Prebióticos	Regulação do trânsito intestinal e da pressão arterial, redução do risco de câncer e dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, além da redução da intolerância à lactose.	Cebola, alho, tomate, aspargo, alcachofra, banana, cevada, mel, cerveja, centeio, raiz da chicória, aveia e trigo.
Probióticos	Regulação do trânsito intestinal, redução do risco de câncer e dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, além do estímulo ao sistema imunológico.	Iogurte, leite fermentado.

Tabela 1– fontes de alguns alimentos funcionais. Fonte: FAGUNDES e COSTA, adaptado, 2003.

3.2 Antocianinas

Antocianinas são pigmentos fenólicos ligados a açúcares que conferem às flores e alguns frutos suas cores características, elas representam o mais importante grupo de pigmentos vegetais hidrossolúveis do reino vegetal (BRAVO, 1998).

O termo antocianina, derivado do grego de flor e azul (anthos = flores; kianos = azul), foi denominado por Marquat em 1853 caracterizando os pigmentos azuis das flores. Mais tarde, foi observado que pigmentos naturais largamente distribuídos no reino vegetal responsáveis pela maioria das cores violeta e vários tons de vermelho em flores, frutos, folhas, caules e raízes eram quimicamente similares aos que deram origem a “flor azul” (BROUILLARD, 1982). Assim, antocianidina corresponde ao composto fenólico livre

(aglicona do tipo flavonóide) enquanto antocianina é o resultado da combinação covalente entre a antocianina e açúcares. Glicose, arabinose, galactose, xilose, frutose e ramnose são os açúcares mais comuns ligados às agliconas. Dissacarídeos e trissacarídeos, oligossacarídeos formados pela combinação destes seis monossacarídeos podem também glicosilar algumas antocianinas (HARBONE; SAITO; DETONI, 1994). Dentre estes, destacam-se os flavonóides e ácidos fenólicos por serem largamente distribuídos na natureza e os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (SOARES, 2002). Essa diversidade estrutural dos polifenóis se deve a grande variedade de combinações que ocorre na natureza, permitindo categorizá-los em várias classes como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Classe de compostos fenólicos em plantas

CLASSE	Nº DE ÁTOMOS DE CARBONO
Fenólicos simples,	C ₆
Ácidos hidroxibenzoicos	C ₆ -C ₁
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C ₆ -C ₃
Flavonóides	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignanas, neolignanas	(C ₆ -C ₃) ₂
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n
Taninos condensados	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

Fonte: (HARBONE,1994)

Em muitos casos os açúcares podem ser acilados por ácidos fenólicos como p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico (MAZZA; BROUILLARD, 1987).

A figura 1 representa a estrutura química básica das antocianinas (LÓPEZ et al., 2000). Apresentam qualidade funcional reconhecida mundialmente, como capazes de evitar doenças coronarianas, antioxidantes naturais (CAO et al., 1997), vasoprotetoras, entre outros aspectos. A ação das antocianinas segue impedindo a oxidação do colesterol na parede das artérias e, conseqüentemente, a não formação da placa responsável pelo entupimento dos vasos.

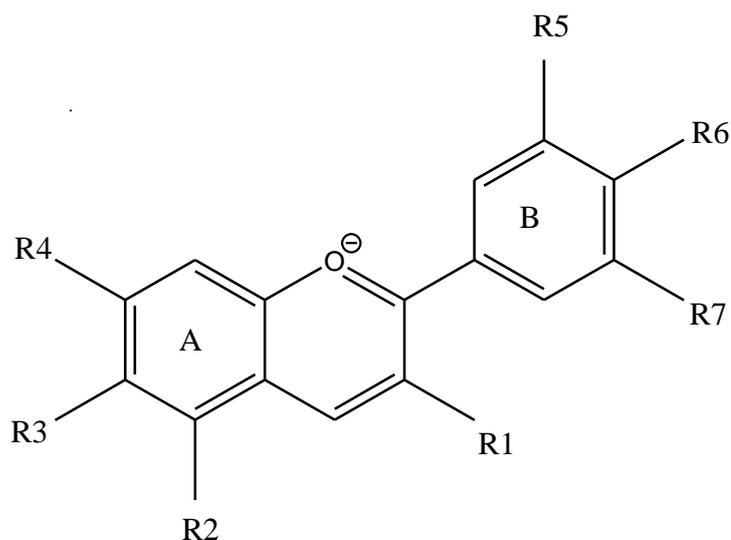


Figura 1 - Antocianinas

Fonte: LÓPEZ et al, adaptado, 2000.

As ligações conjugadas resultam nas cores azul, vermelho e roxo das flores das plantas. Esse grupo foi dividido em seis classes de compostos, responsáveis pelas diferentes pigmentações: vermelho (cianidina, reflete luz carmim), vermelho escuro (peonidina), azul (delfinidina, reflete luz roxo-azulada), púrpura (malvidina) e vermelha escura (petunidina) como mostra a figura 2. A acidez do meio em que se encontram as antocianinas também pode influir na coloração que refletem (STRINGHETA; BOBBIO, 2010).

Segundo Hong et al (2003), uma vez que a eficiência de proteção depende da estrutura química da molécula, como o grau de glicosilação e número de grupos hidroxila no anel B, a determinação da composição de antocianinas nos alimentos é uma questão importante.

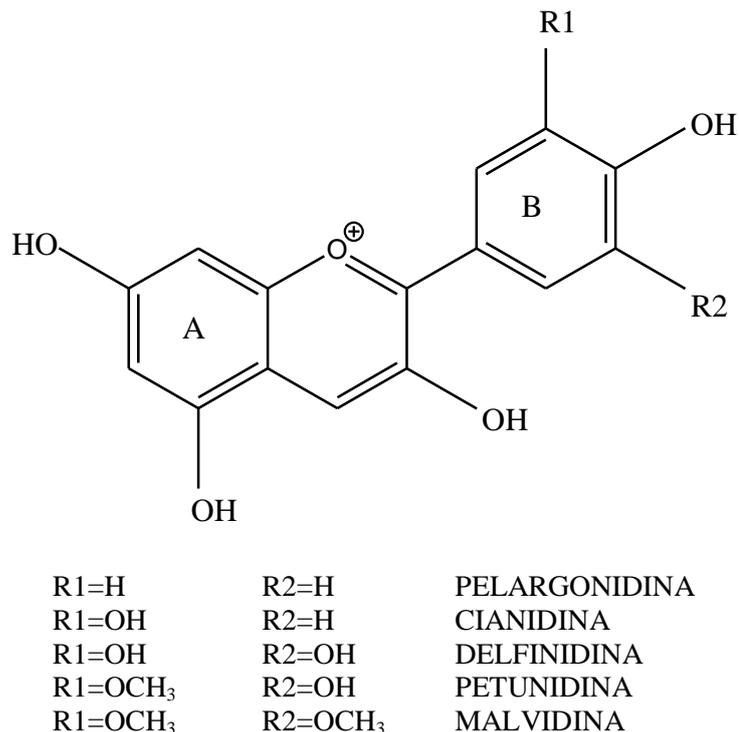


Figura 2 - Esqueleto básico das antocianinas encontradas nos alimentos

Fonte: BOBBIO; BOBBIO, adaptado, 1995

As antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal, segundo Bridle e Timberlake (1997) e são estudadas em todo o mundo como agentes da coloração natural em alimentos (MAZZA; MINIATI, 1993). No entanto, para Markakis (1982), possuem baixa estabilidade em comparação com os corantes sintéticos, limitando a sua utilização na indústria alimentícia.

A luz é um fator de grande importância na alteração da cor das antocianinas e a transformação é mais intensa quando esse fator está associado com o efeito do oxigênio (MARÇO; POPPI, 2008).

Na natureza, as moléculas de antocianinas estão frequentemente associadas com outras moléculas chamadas de co-pigmentos, como os aminoácidos, alcalóides e flavonóides não antocianínicos. Tais estruturas exercem uma influência determinante sobre a cor dos vegetais, favorecendo o seu descolorimento e diminuindo sua estabilidade cromática, de acordo com Bobbio e Bobbio (1995), pois atuam aumentando a intensidade da cor deslocando a absorvância no sentido do maior comprimento de onda, efeito batocrômico (WILSKA; KORZUCHOWSKA, 1996).

Devido à solubilidade em água, as antocianinas ocorrem nos tecidos das plantas

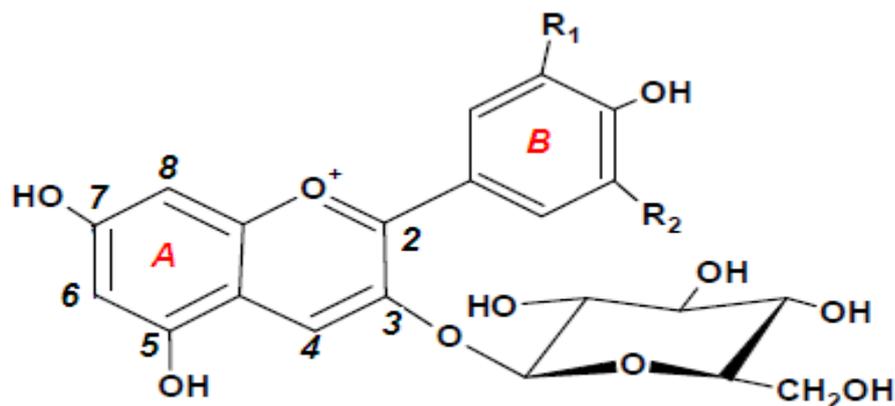
dissolvidas no fluído da célula vegetal, que geralmente apresenta pH levemente ácido (MARÇO; POPPI, 2008) e, segundo Gonnet (1998), nessa faixa de pH as antocianinas apresentam-se incolores. Entretanto, as antocianinas estão sempre relacionadas às partes coloridas das plantas indicando que fatores físico-químicos devem estabilizá-las naturalmente (WILSKA; KORZUCHOWSKA, 1996).

Em geral, os estudos de separação de antocianinas são feitos com o objetivo de separar e identificar cada antocianina presente no extrato. Para tanto pode-se purificar as antocianinas através de técnicas cromatográficas, especialmente pela cromatografia em papel (JACKMAN et al., 1987; SHI; LIN; FRANCIS, 1992; TERAHARA et al., 1989). Outras técnicas alternativas de cromatografias foram extensivamente estudadas por Fossen e Andersen (1996), Andersen e Fossen (1995), além de Shi, Lin e Francis (1992) que estudaram a separação e purificação das antocianinas por cromatografia de camada delgada. Atualmente, a cromatografia líquida de alta eficiência vem se destacando como um processo rápido e eficiente para separar e isolar pigmentos antocianínicos do extrato bruto.

A grande diversidade das antocianinas está relacionada com a possibilidade de várias combinações de grupos substituintes em sua molécula, da natureza e do número de açúcares e de ácidos alifáticos e/ ou aromáticos, bem como da localização desses compostos presentes na sua aglicona o que irá conferir a sua molécula uma maior estabilidade (STRACK; WRAY, 1989). Portanto, é raro no reino vegetal a molécula na forma livre, aglicona.

As antocianinas podem estar glicosiladas em várias posições, mas ocorre naturalmente com maior frequência na posição C3.

O segundo açúcar quando presente na molécula encontra-se na posição C5, porém podem ocorrer glicosilações nas posições C7, C3', C4' e C5' (Figura 3), (BROUILLARD, 1982).



Aglicona (Estrutura do anel B)	Substituição glicosídica (Substituições nas posições 3 e 5)	Acilação (Esterificação das hidroxilas dos açúcares)
R ₁ =R ₂ =H Pelagornidina	Glicose	Ácido p-cumárico
R ₁ =OH, R ₂ =H Cianidina	Arabinose	Ácido ferúlico
R ₁ = R ₂ = OH Delfinidina	Xilose	Ácido caféico
R ₁ =OCH ₃ , R ₂ =H Peonidina	Galactose	
R ₁ =OCH ₃ , R ₂ =OH Petunidina	Ramnose	
R ₁ =R ₂ = OCH ₃ Malvidina	Rutinose	
	Sambubiose	

Figura 3 - Representa a estrutura das antocianinas e as posições de glicosilação e acilação com exemplos de açúcares e ácidos mais comumente encontrados na natureza. Fonte: (MALACRIDA; MOTTA, 2006).

3.3 Vitamina C

Há séculos, a deficiência de vitamina causa diversas doenças mundiais. Um dos grandes responsáveis no combate de algumas destas doenças é o ácido ascórbico ou vitamina C, correspondente, quimicamente, ao (R-3,4-dihidroxi-5-(S)-1,2-didroxi)furan-2-(5H)-ona, fórmula molecular $C_6H_8O_6$ e peso molecular igual a $176,12g.mol^{-1}$. É um sólido branco cristalino, em temperatura ambiente e ponto de fusão entre $190-192^{\circ}C$ (BOBBIO; BOBBIO, 1995). Possui importância para o metabolismo dos animais e é obtido através da alimentação. Sua deficiência leva à síntese defeituosa do tecido colagenoso e ao escorbuto. Os sintomas são sangramento e inchaço das gengivas, perda de dentes, sangramentos subcutâneos, baixa cicatrização e outros. Essa doença era comum na época das grandes navegações e causou grande número de mortes, visto que nas longas viagens os navegantes não dispunham de alimentos como verduras e frutas cítricas (SNYDER, 1995).

De acordo com Ribeiro e Seravalli (2007) vitaminas são compostos orgânicos, necessários em quantidades mínimas para promover o crescimento, manutenção fisiológica e a capacidade de reprodução. A ingestão diária de vitaminas necessária para garantir o funcionamento adequado do organismo é especificada como Dose Diária Recomendada (DDR).

Segundo Sharman (1974) o conceito de vitamina antiescorbútica foi estabelecido pelo polonês Casimir Funk (que denominou a substância de “vital amim”, ou amina vital). Somente em 1935 a síntese total da vitamina C foi realizada por Hirst, Harworth e Szent-Gyorgyi, após vários estudos sobre a definição de sua estrutura. Aguiar (2001) relata que a vitamina C não é sintetizada pelo organismo humano, sendo necessária sua ingestão através da dieta.

O ácido ascórbico (Figura 4) apresenta característica ácida em função do grupo hidróxido-enólico, tautômero da α -hidroxicetona (Figura 5), fornecendo-lhe ação redutora e um comportamento ácido, segundo Davies et al (1991). O nome ascórbico representa a função biológica que a vitamina apresenta contra a doença escorbuto (do latim *scorbutus*, falecer.). Contém um centro estereogênico no carbono 5, ou seja, pode gerar outros estereoisômeros e sua atividade está atribuída ao isômero levógiro.

Apresenta importante atividade antioxidante, por ser facilmente oxidado ao ácido deidroascórbico. As principais fontes de vitamina C são as frutas frescas, principalmente as cítricas, tomates, goiaba, pimentão verde, caju, camu-camu e acerola (FIORUCCI, 2003).

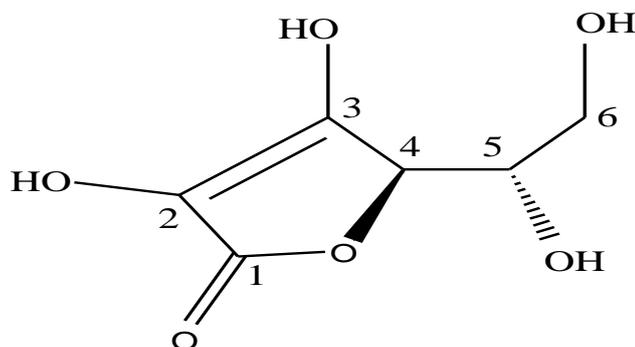


Figura 4 - Estrutura do ácido ascórbico. Fonte: ROSA, adaptado, 2007.

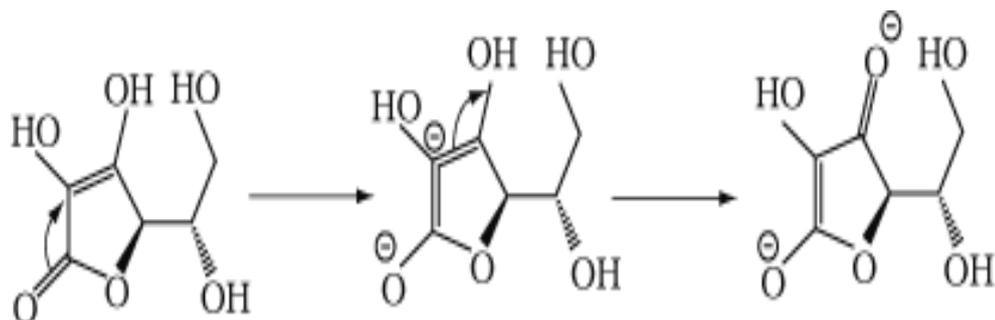


Figura 5 - Acidez das hidroxilas na molécula do ácido ascórbico.
 Fonte: ROSA, 2007.

Guthrie (1989) sinalizou que a determinação do conteúdo de ácido ascórbico em vegetais é muito importante, pois além de seu papel fundamental na nutrição humana, sua degradação pode favorecer o escurecimento não enzimático (ABD ALLAH; ZAKI, 1974), causando sabor estranho (BERNHARDT et al., 1979). O ácido ascórbico é um importante indicador em alimentos, pois sendo a vitamina mais termolábil, sua presença indica que provavelmente os demais nutrientes também estão sendo preservados (BENDER, 1978).

O ácido ascórbico, como antioxidante em alimentos, funciona de diversas maneiras; na remoção do oxigênio, prevenindo, portanto, a oxidação de constituintes sensíveis do alimento e na regeneração de antioxidantes, além de atuar, de forma sinérgica, com os agentes complexantes e, ou, na redução de produtos indesejáveis da oxidação (RAMALHO, 2005).

A vitamina C, apresenta-se sob duas formas: ácido ascórbico e ácido deidroascórbico (forma oxidada), pode ser degradada pelo calor, alcalinidade do meio, oxidação, altas temperaturas e solubilidade em água (BELITZ; GROSH, 1997). Ela proporciona proteção contra a oxidação descontrolada no meio aquoso da célula, devido ao seu alto poder de redução (COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010). Esta vitamina tem sido uma das apontadas para prevenir infecções, doenças cardiovasculares, aumento da atividade imunológica do organismo.

O ácido ascórbico é uma vitamina importante para nutrição humana e a forma do ácido L-ascórbico é a principal biologicamente ativa, desempenhando muitos papéis cruciais no crescimento e metabolismo como um agente antioxidante potente, eliminando várias espécies reativas de oxigênio e agindo como co-fator mantendo a atividade de um número de enzimas (BRAUSE; WOOLLARD; INDYK, 2003).

Estudos recomendam, para melhor conservação da vitamina nos alimentos, o armazenamento em baixa temperatura, rápido pré-aquecimento (para destruir as enzimas oxidantes), além do mínimo contato com o oxigênio atmosférico. Segundo eles, a pasteurização, o cozimento, a desidratação e a evaporação destroem parcialmente a vitamina C, devido a sua alta solubilidade em água. Relatam ainda que os sucos de citros e de tomate enlatados ou congelados contêm os mesmos teores de vitamina C das frutas “in natura” (CAMARGO et al., 1984).

Segundo Fiorucci (2002), a vitamina C é rapidamente decomposta pelo calor. Em consequência dessa característica, o seu isolamento é um tanto difícil, e vegetais cozidos por tempo elevado e alimentos obtidos por processamento industrial intenso contêm vitamina C em pequena quantidade.

3.4 Antioxidantes

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2011), antioxidantes são substâncias capazes de retardar o envelhecimento das células ou sua oxigenação. A ação de combate aos chamados “radicais livres”, ou seja, os oxigênios do tipo singlete tornam os antioxidantes as substâncias mais estudadas nos dias atuais, pois a proposta é ter uma vida longa e saudável. Eles são um conjunto heterogêneo de substâncias, tais como pigmentos naturais, vitaminas, minerais, enzimas e outros compostos vegetais que bloqueiam a ação dos radicais livres.

Do ponto de vista químico, são aquelas substâncias aromáticas que possuem, no mínimo, uma hidroxila (OH^-), sintéticos como, por exemplo, o BHA (butilhidroxianisol), largamente utilizado nas indústrias alimentícias, o BHT (butilhidroxitolueno), naturais ou bioativos como terpenos, organosulfurados, compostos fenólicos, entre outros que fazem parte da constituição de diversos alimentos (BRENNER; PAGLIARINI, 2001; FENNEMA, 1993).

Nas vitaminas antioxidantes, a oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à ação dos radicais livres no organismo. Estas moléculas têm um elétron isolado, livre para se ligar a qualquer outro elétron, e por isso são extremamente reativas. Elas podem ser geradas por fontes endógenas ou exógenas.

As fontes endógenas originam-se daquelas de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, tais como redução de flavinas e tióis resultado da atividade de enzimas como as oxidases, ciclo-oxigenases, lipo-oxigenases, desidrogenases e peroxidases, além de presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons. Esta geração de radicais livres envolve várias organelas celulares, como mitocôndrias, lisossomos, peroxissomos, núcleo, retículo endoplasmático e membranas (SOARES, 2002).

Ainda segundo Soares (2002) as fontes exógenas geradoras de radicais livres incluem tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações, lembrando que, na pele, a principal radiação envolvida é a ultravioleta. As lesões causadas pelos radicais livres nas células podem ser prevenidas ou reduzidas por meio da atividade de antioxidantes, sendo estes encontrados em muitos alimentos.

Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função. Dentre os antioxidantes estão a vitamina C, a glutatona, a vitamina E, o ácido úrico e os carotenóides (SHAMI; MOREIRA, 2004). Estes últimos estão presentes em alimentos com pigmentação amarela, laranja ou vermelha (tomate, abóbora, pimentão, laranja). Seus principais representantes são os carotenos, precursores da vitamina A (Figura 6) e o licopeno. As xantofilas são sintetizadas a partir dos carotenos, por meio de reações de hidroxilação e epoxidação. O β -caroteno e o licopeno são exemplos de carotenos, enquanto a luteína e a zeoxantina são xantofilas. Dos mais de 600 carotenóides conhecidos, aproximadamente 50 são precursores da vitamina A. Dentre os carotenóides, o β -caroteno é o mais abundante em alimentos e o que apresenta a maior atividade de pró-vitamina A (GAZZONI, 2003).

Monteiro e Marin (2011) relatam que tanto os carotenóides precursores de vitamina A como os não precursores, como a luteína, a zeoxantina e o licopeno, parecem apresentar ação protetora antineoplásica, sendo que os possíveis mecanismos de proteção são por intermédio do sequestro de radicais livres, modulação do metabolismo do carcinoma, inibição da proliferação celular, aumento da diferenciação celular via retinóides, estimulação da comunicação entre as células e aumento da resposta imune. O β -caroteno é um potente antioxidante com ação protetora contra doenças cardiovasculares. A oxidação do LDL (low density lipoprotein) é fator crucial para o desenvolvimento da aterosclerose e o β -caroteno atua inibindo o processo de oxidação da lipoproteína.

Estudos apontam que a luteína e a zeoxantina, que são amplamente encontradas em vegetais verde-escuros, parecem exercer uma ação protetora contra degeneração macular e catarata, degenerativas importantes associadas com envelhecimento (SOUZA, 2003).

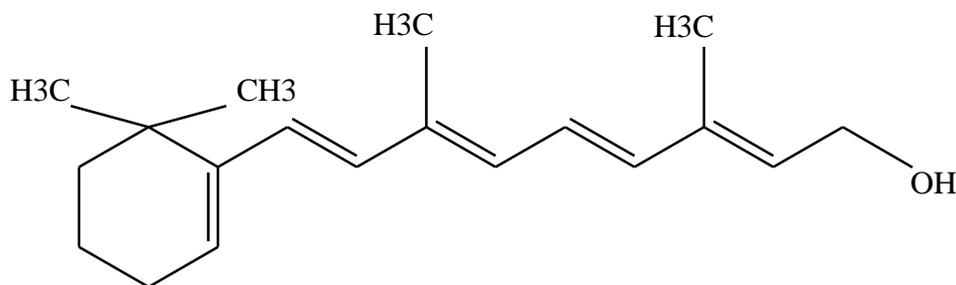


Figura 6 - Estrutura química da vitamina A (retinol)

A assertiva de Guo et al (2003) de que algumas frutas podem potencialmente conter maior teor de compostos antioxidantes nas sementes e casca do que na polpa, tem apontado para a viabilidade de uso deste material na extração de antioxidantes naturais.

3.5 Açúcares

Os açúcares são os componentes mais abundantes e amplamente distribuídos entre os alimentos. Apresentando varias funções como: nutricional (geram energia), adoçante natural (glicose, frutose, sacarose, etc.), matéria-prima para produtos fermentados, principal ingrediente dos cereais, responsável por propriedades reológicas da maioria dos alimentos de origem vegetal (polissacarídeo) e pela reação de escurecimento em muitos alimentos. Os açúcares são os carboidratos existentes nos alimentos e são divididos em: monossacarídeos (glicose, frutose), dissacarídeos (sacarose, lactose, galactose, maltose), polissacarídeos (maltodextrinas, amidos, gomas, pectinas e celulosas (PARK; ANTONIO, 2006).

Os açúcares são também chamados de carboidratos ou hidratos de carbono, em virtude de a maioria desses compostos apresentar uma fórmula que pode ser representada por $C_mH_{2n}O_n$ ou $C_m(H_2O)_n$, inicialmente interpretada como um indicação de carbono hidratado. Quimicamente, os termos açúcar, carboidrato, glicídio são os compostos orgânicos pertencentes à função mista poliol-aldeído ou poliol-cetona e às substâncias que, por hidrólise, produzem tais compostos (NOVAIS, 2009).

Ainda segundo Novais (2009), o termo glicídio, deriva do grego *glykys*, que significa “doce”, tendo origem no fato de muitos desses compostos apresentarem sabor adocicado. No entanto, é necessário frisar que nem todos os glicídios são adocicados, por exemplo, o polissacarídeo amido (formados por milhares de moléculas de monossacarídeos) não apresenta sabor doce.

Segundo a ANVISA (BRASIL, 2012) os açúcares são todos os monossacarídeos e dissacarídeos presentes em um alimento que é digerido, absorvido e metabolizado pelo ser humano.

Segundo Bobbio e Bobbio (1995), açúcares são sólidos incolores, cristalinos e apresentam sabor doce.

A glicose tem fórmula química básica igual a $C_6H_{12}O_6$, que apresenta a proporção de um átomo de carbono para uma molécula de água. Tal proporção mantém-se em todos os compostos desse grupo. Os açúcares mais simples são chamados de monossacarídeos podem ter de três a sete átomos de carbono, e os mais conhecidos – glicose, frutose - têm seis e os

polissacarídeos, como a sacarose que apresenta doze átomos de carbonos, conforme mostra a figura 7. A sacarose é um dissacarídeo (participa de hidrólise resultando em compostos de menor peso molecular), enquanto que a glicose e frutose são monossacarídeos (não são hidrolisáveis). A glicose, frutose e sacarose também são consideradas carboidratos simples, por serem de fácil digestibilidade no organismo (POMINE; MOURÃO, 2006).

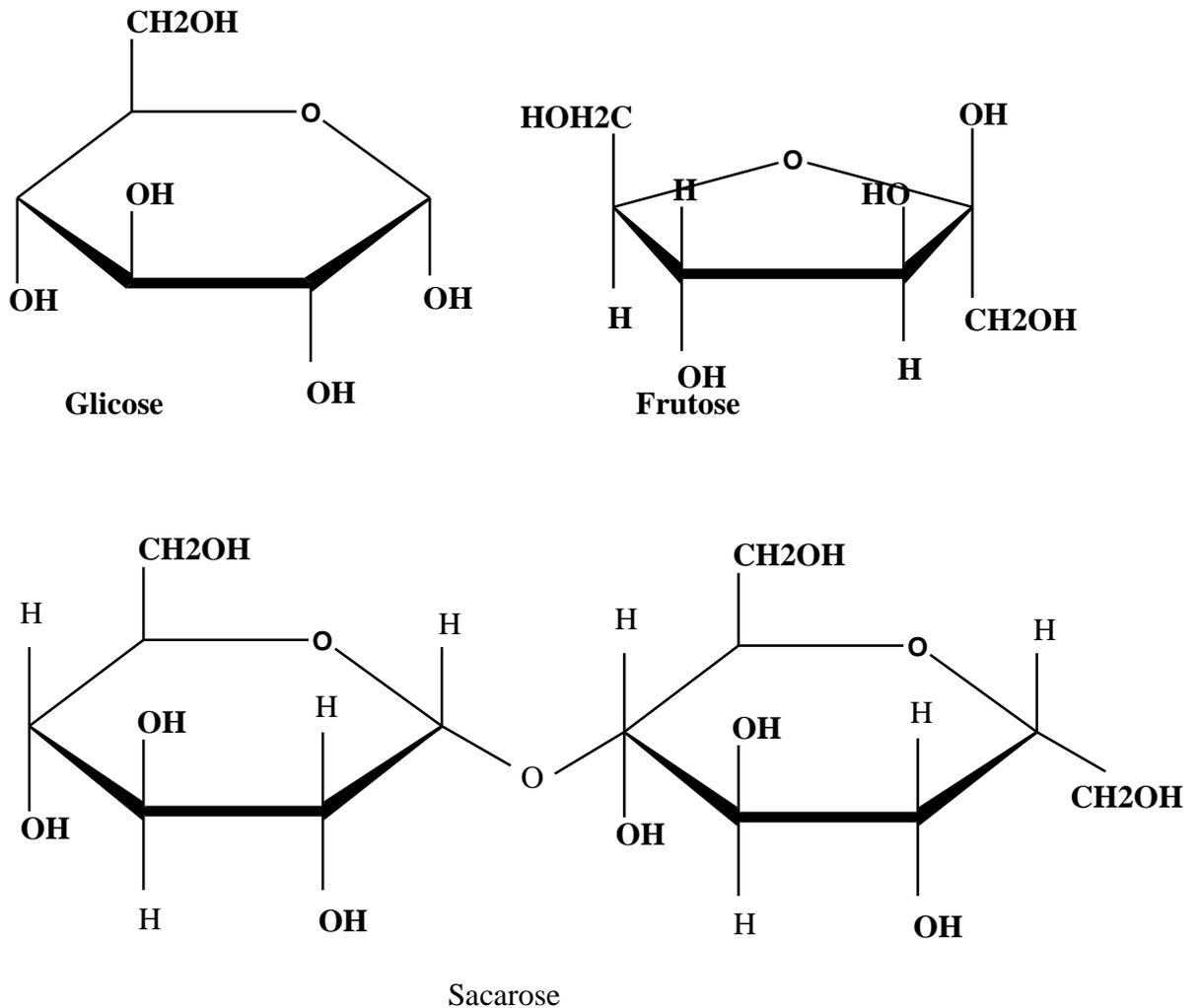


Figura 7 - fórmulas da glicose, frutose e sacarose, respectivamente.

Os açúcares melhoram a qualidade do alimento, bem como modificam o “flavor”, as características físico-químicas e podem apresentar outras propriedades benéficas para o consumidor, como por exemplo, a textura do alimento (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996).

São compostos determinantes para a composição da microflora intestinal, aumentando a produção das bifidobactérias e redução das bactérias deterioradoras (SAKO et al., 1999), reduzindo a ação dos metabólitos tóxicos (MODLER, 1994; TOMOMATSU, 1994).

Os carboidratos que participam da dieta podem ser classificados com base nas propriedades fisiológicas de digeríveis ou não-digeríveis, havendo três principais tipos de carboidratos não-digeríveis: os polissacarídeos não-amídicos, os amidos resistentes e os oligossacarídeos não-digeríveis (VORAGEN, 1998).

A determinação de açúcares em alimentos reconhece sua característica para que o mesmo possa ser utilizado como adoçante ou outra fonte de energia, além de reconhecer sua qualidade.

3.6 A Espectrofotometria e o Método da Capacidade Antioxidante Trolox Equivalente TEAC

Os métodos espectrofotométricos baseiam-se na capacidade que a amostra tem de ser descolorida em presença de algum reagente, como por exemplo, o ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) que através de uma reação química com persulfato de potássio, gerando o cátion radical $ABTS^{\cdot+}$, que inicialmente possui coloração verde escura, passando para um verde claro no processo de captura. Alguns reagentes tornam-se responsáveis pela razão custo/benefício nesta captura deste radical, observando a sua capacidade antioxidante total (BUTERA et al., 2002).

A atividade antioxidante total (AAT) é calculada baseada em uma curva padrão linear, sendo o antioxidante de referência o composto 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico ou Trolox a 2000 μM . O método TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) mede a capacidade antioxidante de uma dada substância, em comparação com o padrão Trolox, um análogo da vitamina E, utilizando o ensaio em ABTS para a descoloração e posterior leitura em espectrofotômetro U.V visível a 734 nm.

Segundo Miller et al (1993), o decréscimo produzido pelo Trolox é comparado àquele que é gerado pelo antioxidante que está sendo analisado, a técnica consiste na redução da coloração intensa do composto $ABTS^{\cdot+}$ o qual é oxidado pela amostra, e se transforma em $ABTS^+$. Quanto mais a coloração é reduzida, maior será o potencial antioxidante da amostra. Usa-se um cálculo com os resultados interpolados em uma curva de calibração e expressos em atividade antioxidante equivalente a 2000 μM (RUFINO et al., 2007; Re et al, 2007).

As influências tanto da concentração de antioxidante e duração da reação sobre a inibição da absorção do cátion radical são consideradas como fator determinante na concentração da atividade antioxidante.

3.7 Pitaya



Figura 8 - Pitaya vermelha de polpa branca.

A pitaya (Figura 8) é uma cactácea pertencente ao gênero *Hylocereus*, originária da América, e de alto Potencial agrônômico e econômico (ORTIZ; LIVERA, 1995). Também conhecida como Fruta dragão ou pitaya vermelha ou rainha da noite, pertence ao grupo das Cactáceas da família Cactóide, subfamília da Cactea (RAVEH; MIZRAHIA; NERD, 1993). Este nome significa “fruto coberto por escamas”, segundo os mexicanos. Segundo Zee, Yen e

Nishina (2004), o nome é empregado tanto para a planta como para o fruto.

Donadio e Sader (2005) relatam que existem dois tipos de pitayas de maior valor comercial: a amarela (*Selenicereus magalanthus*, Figura 9), que possui polpa amarela-acinzentada, proveniente da Colômbia ou Martinica, e a vermelha (*Hylocereus undatus*) que tem polpa branca e vermelho-rosada, sendo encontrada no México, Nicarágua e Brasil.

A pitaya vermelha (*Hylocereus undatus* Haw) é uma cactácea originária das Américas, estando distribuída na Costa Rica, Venezuela, Panamá, Uruguai, Brasil, Colômbia e México, sendo os dois últimos os principais produtores a nível mundial (CANTO, 1993). Encontra-se maior diversidade genética no México e Nicarágua (ORTIZ, 1999).



Figura 9 - Pitaya amarela

Fonte: (REVISTA GLOBO RURAL, 2011)

É uma planta perene e que comumente cresce sobre árvores ou pedras; tem raízes fibrosas, abundantes e desenvolve também numerosas raízes adventícias, que ajudam na fixação e na obtenção de nutrientes; os cladódios são triangulares, suculentos e apresentam espinhos com 2 a 4 mm de largura. Ela cresce nos muros e nas árvores que lhe servem de apoio. A flor é hermafrodita, de coloração branca, grande (mede cerca de 20 a 30 cm de largura) e abre durante a noite. Os frutos podem apresentar-se vermelhos ou amarelos externamente, muito atrativos ao consumidor, com polpa esbranquiçada, de sabor agradável, levemente adocicado, apresentando um grande número de diminutas sementes, de coloração preta (CANTO, 1993).

As plantas são sensíveis a temperaturas extremas. Isso deve ser levado em consideração quando selecionar o local para um plantio comercial. Idealmente, um local “frost-free” deve ser selecionado. Estes cactos mostram danos a -2°C e muitas vezes morrem em -4°C (THOMSON, 2002).

Estas plantas também serão danificadas em temperaturas acima de 45°C . Nerd e Mizrahi (1999) relatam que a pitaya é uma espécie adaptada para áreas sombreadas e não para desertos, portanto, elas crescerão melhor em áreas ao longo da costa, onde as temperaturas são moderadas pela influência do oceano.

Esse fruto apresenta casca folhosa (escamada) chamadas de brácteas, bem desenvolvidas, de coloração rosa intenso e ou amarela dependendo da espécie. A qualidade dos atributos da pitaya depende de suas características físico-químicas, que dependem, intrinsecamente, do clima e solo (ALVARENGA; FORTES, 1985).

Segundo Le Bellec e Imbert (2006), a espécie *Hylocereus polyrhizus* é um fruto pequeno de escalada, apresenta como um cacto que tem recebido, em todo o mundo, um reconhecimento como uma planta ornamental com grandes e perfumadas flores que se abrem à noite, tem polpa branca, com muitas pequenas sementes pretas, com boa textura e sabor agradável.

A pitaya é considerada como uma rica fonte de nutrientes e minerais como vitamina B2, vitamina B1, B3 e vitamina C, proteínas, gorduras, fibras, carboidratos, flavonóides, tiamina, niacina, piridoxina, cobalamina, glicose, alguns compostos fenólicos, betacianinas, polifenóis, caroteno, ferro, fósforo e fitoalbuminas. Também é rica em potássio, proteínas, fibras, sódio e cálcio (KHALILI et al, 2006).

As sementes da pitaya contêm um óleo com propriedade laxativa, reduzem o colesterol total e o LDL (Lipoproteína de baixa densidade, considerado o “mau colesterol”) em humanos, pois inibem a absorção dessa gordura pelo intestino, favorecendo uma ação laxante suave (CRANE; BALERNI, 2005).

De acordo com Nerd e Mizrahi (1999) estudos realizados no Vietnã e Israel, respectivamente, comprovaram que o tempo ideal para a colheita de frutas *Hylocereus undatus* foi de 28 a 30 dias após o florescimento. Segundo Donadio (2009), essas frutas são climatéricas, ou seja, amadurecem depois da colheita, por isso devem ser colhidas ainda verdes, onde tem maior conservação e quando mantidas a uma temperatura de 14°C não perdem suas propriedades.

De acordo com Canto (1993), a composição química da parte comestível da pitaya apresenta:

CALORIAS	36g
ÁCIDO ASCÓRBICO	25mg
ÁGUA	89,4g
PROTEÍNAS	0,5g
GORDURAS	0,01g
CARBOIDRATOS	9,2g
FIBRA	0,3g
CINZAS	0,5g
CÁLCIO	6g
FÓSFORO	19g
FERRO	0 mg
TIAMINA	0,01mg
RIBOFLAVINA	0,03mg
NIACINA	0,02mg

Quadro 1 - Composição química da parte comestível da pitaya
Fonte: (CANTO, 1993)

3.7.1 A Produção, consumo e mercado da pitaya no Brasil

O Brasil encontra-se em terceiro lugar na produção mundial de frutas. A produção em 2009 superou a marca de 33 milhões de toneladas (AGRIANUAL, 2010). Estudo da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e da Organização para a

Cooperação e Desenvolvimento Econômico (FAO-OCDE) aponta que o Brasil deverá aumentar em 40% a produção agrícola até 2019, superando com grande margem países como Ucrânia (29%), Rússia (26%), China (26%), Índia (21%), Austrália (17%), Estados Unidos e Canadá (10 a 15%) (PORTAL DO AGRONEGÓCIO, 2011).

Segundo Fernandes (2006), este país possui 5 milhões de propriedades rurais que geram cerca de 35% de empregos e são a principal fonte de divisas internacionais, correspondentes 40% das exportações brasileiras. A pitaya encontra-se no Brasil, ainda, com a produção um pouco tímida. Alguns produtores do interior do estado de São Paulo apresentam essa fruta como bagagem no seu pomar. A agroindústria brasileira é um dos principais segmentos da economia nacional, com importância tanto para abastecimento interno como para o desempenho exportador do País, com destaque para o preparo e abate de carnes, fabricação e refino de açúcar, laticínios, panificação e fabricação de massas, óleos vegetais e indústrias de sucos (LIRA, 2008).

No Brasil, existem pequenas áreas de produção de pitaya, situadas principalmente no Estado de São Paulo, localizadas na região de Catanduva. Entretanto, devido ao maior consumo de frutas exóticas e ao seu valor comercial, surgiu interesse por parte dos fruticultores no plantio e cultivo desta frutífera. Na região Sudeste, a produção dos frutos ocorre durante os meses de dezembro a maio. A produtividade média anual é de 14 toneladas de fruto/ha (BASTOS et al., 2006).

Existe uma comprovação que a vida útil ou o tempo de comercialização da pitaya, sem ocorrência de variações em suas características físico-químicas na pós-colheita do fruto e sem uso de nenhum tratamento químico, poderá ser de até 10 dias (HOA et al., 2006).

3.8 A Técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

É um processo de análise de separação física cuja aplicação permite a análise qualitativa (mais comumente) e quantitativa de uma amostra. Esse método analítico vem sendo amplamente empregado graças ao rápido tempo de análise. Permite separar constituintes de uma mistura através de sua distribuição em duas fases: uma estacionária (fixa) e a outra fase móvel. Essa técnica utiliza suportes com partículas diminutas que são os responsáveis pela alta eficiência desse método de cromatografia. A fase móvel (líquida) movimenta-se continuamente através da coluna contendo a fase estacionária (sólido). O soluto interage com as fases estacionárias e móveis por adsorção, partição, exclusão molecular, troca iônica. As separações em CLAE podem ser por adsorção (separação sólido-líquido), partição (separação líquido-líquido) ou ambos (CECCHI, 2003).

A cromatografia líquida clássica é muito utilizada para isolamento de produtos naturais e purificação de produtos de reações químicas. As fases estacionárias mais utilizadas são sílica e alumina, entretanto estes adsorventes podem servir simplesmente como suporte para uma fase estacionária líquida. Fases estacionárias sólidas levam à separação por adsorção e fases estacionárias líquidas por partição (LANÇAS, 2009).

Por convenção, quando a fase estacionária contém grupos polares (por exemplo, fases contendo grupos como ciano propil ou amino propil quimicamente ligados à sílica), o sistema é dito estar operando em Fase Normal (*Normal Phase* ou NP). Neste caso, o eluente é, usualmente, menos polar (hexano, diclorometano, éter de petróleo) para que ocorra a partição do analito entre duas fases, e a separação desejada seja obtida. Empregando-se fases estacionárias contendo grupos apolares tais como octadecil (C-18; octil (C-8), hexil (C-6)) o processo é chamado Fase Reversa (*Reverse Phase*, RP) e a fase móvel será mais polar, usualmente empregando solventes como metanol ou acetonitrila misturado com água (LANÇAS, 2009).

Em CLAE, várias operações podem ser necessárias (Figura 10), dependendo da natureza da amostra, da matriz e da concentração dos analito a serem determinados (LANÇAS, 2009).

A CLAE nada mais é que uma otimização da coluna clássica, em que o solvente passa pela coluna a alta pressão, tornando a separação entre os compostos da amostra muito mais rápida eficiente (CECCHI, 2003).

Os mais populares detectores em CLAE são os detectores de absorvância de radiação ultravioleta. O princípio de funcionamento dos mesmos é que a fase móvel que emerge da coluna passa através de uma pequena célula que é mantida no caminho de um feixe de radiação UV-Visível, provinda de uma lâmpada de deutério (UV), ou tungstênio (Visível). A radiação não absorvida é medida em um dispositivo denominado fotodiodo (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 1997).

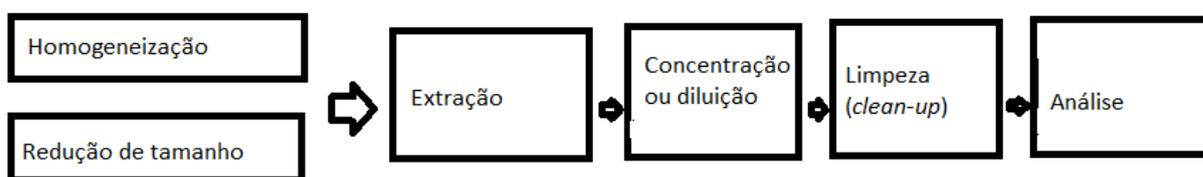


Figura 10 – Operações tipicamente envolvidas durante o preparo da amostra para análise cromatográfica
Fonte: LANÇAS, 2009

Alguns estudos de determinação de antocianina por CLAE preveem uma hidrólise ácida para obtenção das antocianidinas no material, diante da impossibilidade de obter padrões que permitissem a identificação das antocianinas. Entretanto, para identificar e quantificar as antocianinas, individualmente, por meio da CLAE de fase reversa, o maior desafio é a disponibilidade dos padrões de referência para mais de 600 compostos já identificados, segundo Wrolstad (2004), ao se referir à apresentação de Andersen (2002) durante o *Workshop* Internacional de Antocianinas.

Esta diversidade é resultante do número de grupos hidroxila e metoxila, da natureza e do número de açúcares e de ácidos alifáticos e/ou aromáticos, bem como da localização desses compostos presentes na aglicona (STRACK; WRAY, 1994). No entanto, por hidrólise ácida, o número de antocianinas pode ser reduzido gerando estruturas menos complexas, as antocianidinas, cujos padrões encontram-se comercialmente disponíveis (NYMAN; KUMPULAINEN, 2001). Todavia, a mais rápida e eficiente separação de misturas complexas de antocianinas pode ser feita por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE).

Como essa técnica não é destrutiva, os picos separados podem ser coletados para análises posteriores. Além disso, a CLAE pode ser usada para separar e quantificar microgramas de antocianinas sem necessitar de extensa purificação preliminar das amostras (JACKMAN; YADA; TUNG, 1987).

Outra grande vantagem da CLAE sobre outros métodos analíticos é a sua resposta rápida através das partículas muito pequenas para análise, facilitando o resultado (CIOLA, 1998).

Em comparação à Espectrofotometria, por exemplo, onde o analito está entre comprimento de onda que varia do ultravioleta visível até o infravermelho, alguns fatores físicos podem diminuir a sensibilidade, como a excessiva diluição da amostra, deixando-a fora da faixa ótima de leitura ou então a ocorrência de desvios instrumentais, quando as soluções estão muito concentradas e as moléculas de soluto influenciam umas às outras

devido a suas proximidades, pois quando ficam muito perto umas das outras, a absorvibilidade pode mudar um pouco o resultado (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 1997).

3.9 pH

O pH é uma medida que expressa a acidez, basicidade ou neutralidade de uma substância. Determina a concentração hidrogeniônica de uma solução e se relaciona inversamente com a acidez (THÉ, 2001).

O seu valor pode ser relacionado com o teor de vitamina C no alimento, considerando que quanto maior o valor do pH, menor será o teor de vitamina C. O pH de um alimento, garantirá se o mesmo sofrerá deterioração mais ou menos rápido, pois os micro-organismos atuam de forma mais intensa, quando o valor dessa grandeza encontra-se na faixa neutra à alcalina.

3.10 Sólidos Solúveis (SS) ou Grau Brix em Alimentos

Esta grandeza corresponde ao teor de sólidos solúveis no alimento, caracterizando sua maturidade ou grau de acidez (ROJAS-BARQUERA; NARVAES-CUENCA, 2009). O teor de Brix relaciona a quantidade de substâncias dissolvidas no alimento, constituída majoritariamente, por açúcares (CASTRO, 2005).

Gomes, Figueirêdo e Queiroz (2002) indicaram que a doçura, sabor, cor e textura são indicativas da presença de açúcares solúveis, sendo os principais açúcares encontrados nos frutos, a glicose, frutose e sacarose, variando em proporções de acordo com a espécie e estágio de maturação. Os teores de sólidos solúveis remetem ao total de todos os sólidos dissolvidos na água, começando com açúcar, sais, proteínas e ácidos. Existe uma correlação entre a maturação e o conteúdo útil de açúcar nas frutas.

3.11 Acidez Total Titulável

De acordo com Cecchi (2003) os ácidos orgânicos presentes nos alimentos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e manutenção de sua qualidade. A acidez titulável varia de 0,2 a 0,3% em frutas de baixa acidez como maçãs vermelhas e bananas, 2,0% em ameixas e acima de 6% em frutas cítricas, como o limão. O ácido cítrico é o principal constituinte de várias frutas como limão, laranja, figo, pêsego, pêra, abacaxi, morango e tomate. A proporção relativa de ácidos orgânicos presente em frutas e vegetais varia com o grau de maturação e condições de crescimento.

Um processo de decomposição do alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera a concentração dos íons hidrogênio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005), conseqüentemente, altera sua acidez em função do incremento na concentração de ácidos orgânicos, produtos gerados do metabolismo respiratório dos frutos.

A acidez total titulável relaciona todos os ácidos existentes no alimento, influenciando seu sabor, odor, estabilidade e manutenção da qualidade (CECCHI, 2003).

3.12 A técnica de espectrometria de massas (ES ou Mass Spectrometry, MS)

Com a descoberta do íon, por Goldstein em 1886 e, posteriormente com a invenção, por J. Thomson, do primeiro espectroscópio de massa, em 1907, o mundo abriu-se às novas técnicas analíticas, dentre elas destacou-se a Espectrometria de Massa, cujo princípio é a determinação da massa molecular de um íon que se movimenta ao longo de um campo eletromagnético. Ela permite determinar com exatidão a massa molecular de uma grande

variedade de compostos químicos e bioquímicos, obtendo relevantes informações sobre suas caracterizações estruturais.

Segundo Carvalho et al (2006), esta técnica é sensível, destrutiva e trabalha com a relação massa/carga e o espectrômetro de massa é um instrumento analítico capaz de converter moléculas neutras em íons na forma gasosa e separá-las de acordo com essa razão massa/carga (m/z), utilizando para isso campos eletromagnéticos. Esse equipamento atua como uma balança de íons de altíssima precisão e, em sua grande maioria, é composto por uma fonte ionizante, analisador (es), e detector(es), conforme esquematizado na Figura 11. Como resultado é emitido um gráfico onde o eixo y representa a intensidade do sinal dos íons e o eixo x, a razão m/z destes.



Figura 11 – Esquema simplificado de um espectrômetro de massa
Fonte: CARVALHO et al, 2006.

Existe, ainda, uma técnica utilizando-se a Espectrometria de Massas acoplada à CLAE que visa garantir a melhor acurácia e resposta rápida ao analito. Esta combinação gera resultados para a determinação de estruturas de misturas de antocianinas (GLÄSSGEN et al, 1992).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os métodos e materiais utilizados na pesquisa foram os elencados a seguir:

4.1 Matéria – Prima

As amostras de pitaya de polpa branca e vermelha (Figura 12) foram adquiridas no mercado da Cidade do Rio de Janeiro.



Figura 12 - Pitayas de polpa branca e vermelha *in natura*

4.1.1 Material

Os frutos foram selecionados, lavados e em seguida, recolheu-se as polpas (parte comestível) dos frutos, acondicionou-se sob refrigeração para posteriores análises em CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), cromatógrafo da marca Waters 2695, modelo ALLIANCE com detector de arranjos de fotodiodos Waters 2996. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia Líquida da Embrapa Agroindústria de Alimentos, localizada em Guaratiba – RJ.

Na realização das análises foram utilizadas as seguintes vidrarias, equipamentos e reagentes:

- Balança analítica modelo BEL – Enginner[®];
- Cartuchos tipo Sep-Pak C18 Waters[®];
- Centrífuga modelo EBA-12;
- Agitador vórtex, marca MISTRAL MIXER da LAB-LINE;
- Cromatógrafo líquido marca Waters modelo ALLIANCE com detector de arranjos de fotodiodos 2695;
- Ponteiras para pipetador automático com capacidade para 10 a 1000 μL -Brand[®];
- Ponteiras para pipetador automático com capacidade para 100 a 1000 μL -Brand[®];
- Pipetadores automáticos com capacidade de 10, 100 e 1000 μL -Brand[®];

- Balões volumétricos âmbar com capacidade 10, 25, 100, 200, 500 e 1000 mL;
- Tubos de vidro transparente de capacidade de 50 mL;
- Pipetas do tipo Pasteur;
- Béqueres com capacidade de 50, 100, 250 e 500 mL;
- Vials âmbar e transparentes para injetor automático com capacidade para 1,8 mL – Waters[®];
- Gral de porcelana com pistilo;
- Cronômetro digital;
- Colher de inox;
- Malha de náilon;
- Cubetas de vidro (4 x 1 cm);
- Espectrofotômetro, modelo SHIMADZU;
- Tubos de ensaio com tampa rosqueada (8 mL);
- Tubos de ensaio sem tampa (8 mL);
- Ácido sulfúrico supra puro marca Tedia[®];
- Água ultra – pura obtida do sistema Milli-Q[®] a 10 – Millipore;
- Acetonitrila, marca Tedia[®];
- Celite, marca Tedia[®];
- Ácido fórmico, marca Tedia[®];
- Metanol, marca Tedia[®];
- ABTS (2,2'- azinobis (3 – etilbenzenotiazolina- 6 –ácido sulfônico), marca SIGMA-ALDRICH[®]);
- Agitador Ultraturrax[®];
- Papel de filtro;
- Acetona P.A, marca Tedia[®];
- Álcool metílico P.A, marca Tedia[®];
- Persulfato de potássio, marca SIGMA-ALDRICH[®];
- Trolox (6-hidroxi – 2,5,7,8 – tetrametilchroman- 2- ácido carboxílico), marca SIGMA-ALDRICH[®] ;
- Detetor de Índice de Refração, IR 2410;
- Etanol P.A 95%, marca VETEC[®];
- Tubos Eppendorf;
- Detetor de índice de refração modelo 2410, marca Waters

4.2 Quantificação de Açúcares

Com os padrões analíticos dos açúcares a serem quantificados (frutose, glicose e sacarose) e o uso da metodologia descrita em Macrae (1988), determinou-se os teores desses açúcares nas amostras das pitayas de polpa branca e vermelha de acordo com o fluxograma abaixo (figura 13):

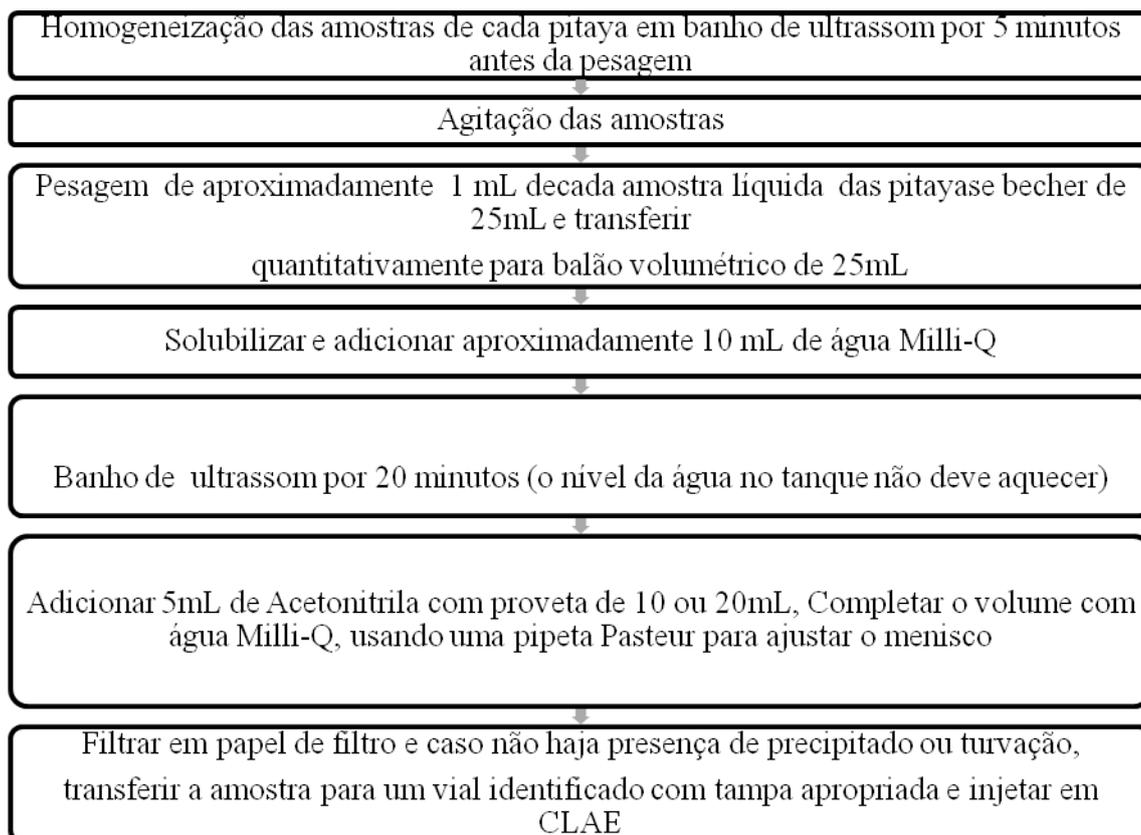


Figura 13 – Fluxograma da análise de açúcares em CLAE

As Condições cromatográficas da análise foram:

- Fase móvel (FM): 75% de Acetonitrila;
- Volume da injeção: 20 μ L;
- Fluxo: 1,4 mL/min;
- Coluna: Fase reversa amino 30 cm x 4,6 mm (High Performance Carbohydrate);
- Temperatura ambiente na coluna;
- Detetor IR 2410: sensibilidade = 4 e fator de escala = 8

O cromatógrafo líquido usado foi o da marca Waters modelo ALLIANCE com detector de arranjos de fotodiodos Waters 2695 com detector de índice de refração IR 2410.

4.3 Quantificação de Antocianinas

Utilizando o Comunicado Técnico nº 162- Embrapa (SANTIAGO et al., 2010), procedeu-se a análise, seguindo o fluxograma abaixo (figura 14) e com as seguintes condições cromatográficas:

- Fase móvel (FM): solução de 5% de ácido fórmico em água MILLI-Q e acetonitrila (eluição em gradiente);
- Volume da injeção: 20 μ L
- Fluxo: 1,0 mL/min;
- Coluna: C18 3,5 μ m (4,6 150 mm);
- Temperatura ambiente na coluna;
- Temperatura interna do detetor: 45°C;

O cromatógrafo líquido usado foi o da marca Waters modelo ALLIANCE com detector de arranjos de fotodiodos Waters 2695.

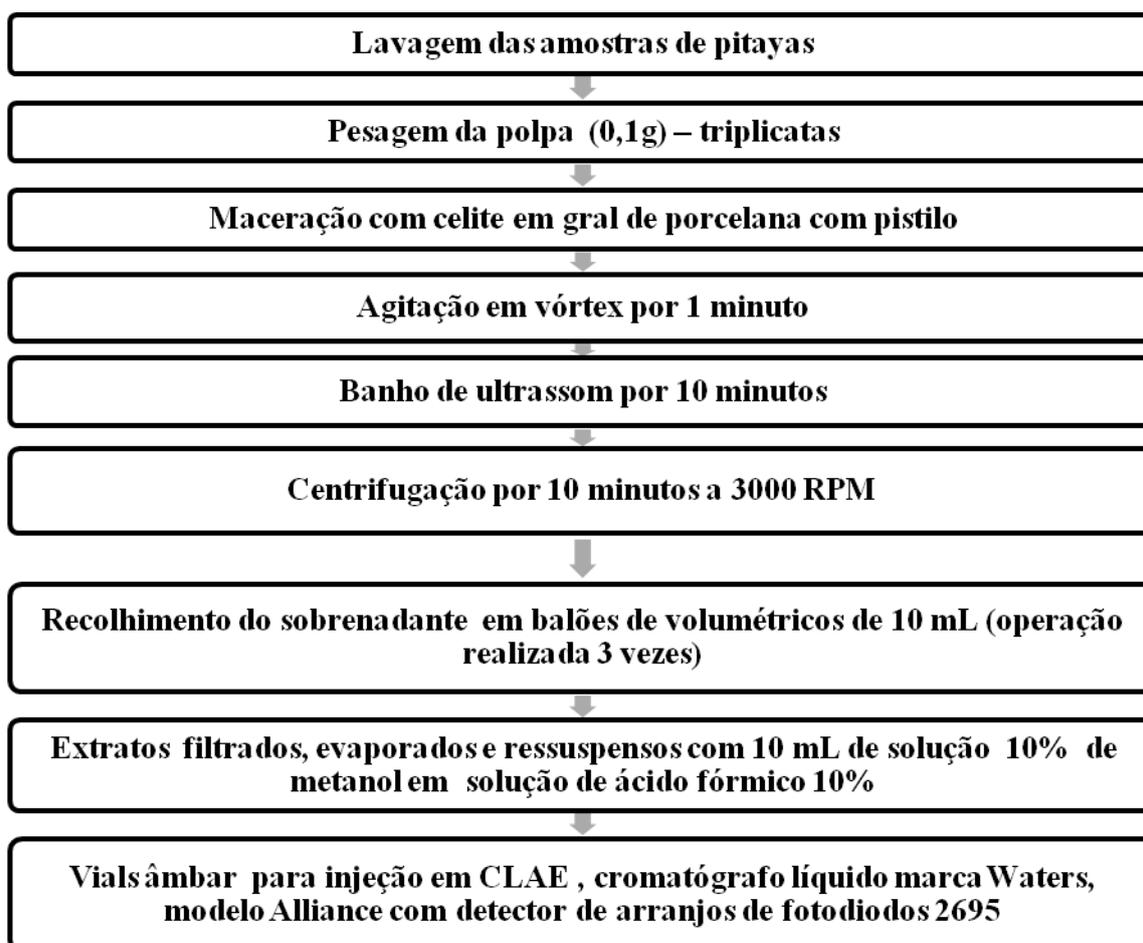


Figura 14 – Fluxograma da análise de antocianinas em CLAE

4.4 Quantificação de Vitamina C

A análise foi realizada através de CLAE, de acordo com a metodologia descrita em Rosa et al (2007), seguindo o fluxograma abaixo (Figura 15) e com as seguintes condições cromatográficas:

- Fase móvel: solução de 0,1N de ácido sulfúrico
- Coluna empregada: troca iônica BIORAD HPX87-H (7,8 x 300 mm);
- Cromatógrafo marca Waters, modelo ALLIANCE com detector de arranjos de fotodiodos Waters 2695 com detetor Ultra Violeta Visível de absorção em 243,8 nm;
- Volume de injeção: 20µL;
- Fluxo: 0,7mL/min;
- Tempo de corrida: 10 minutos;
- Temperatura do injetor: 5°C.

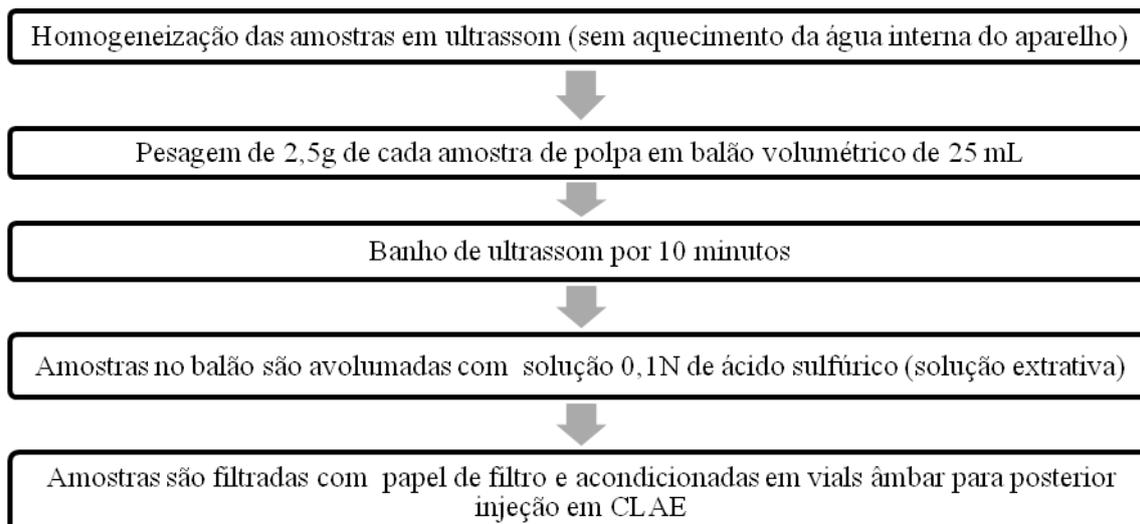


Figura 15 – Fluxograma para análise de vitamina C em CLAE

4.5 Quantificação de Antioxidantes

Usando-se o método de captura do radical ABTS^{•+} (2,2'-azinobis (3-etilbenzenotiazolina- -ácido sulfônico), conforme descrito em Re et al (1999), mediu-se a atividade antioxidante das amostras das pitayas de polpa branca e vermelha, pesando-se 7 e 5g, respectivamente de cada fruta (análise feita em triplicatas), observando-se o fluxograma abaixo (Figura 16):

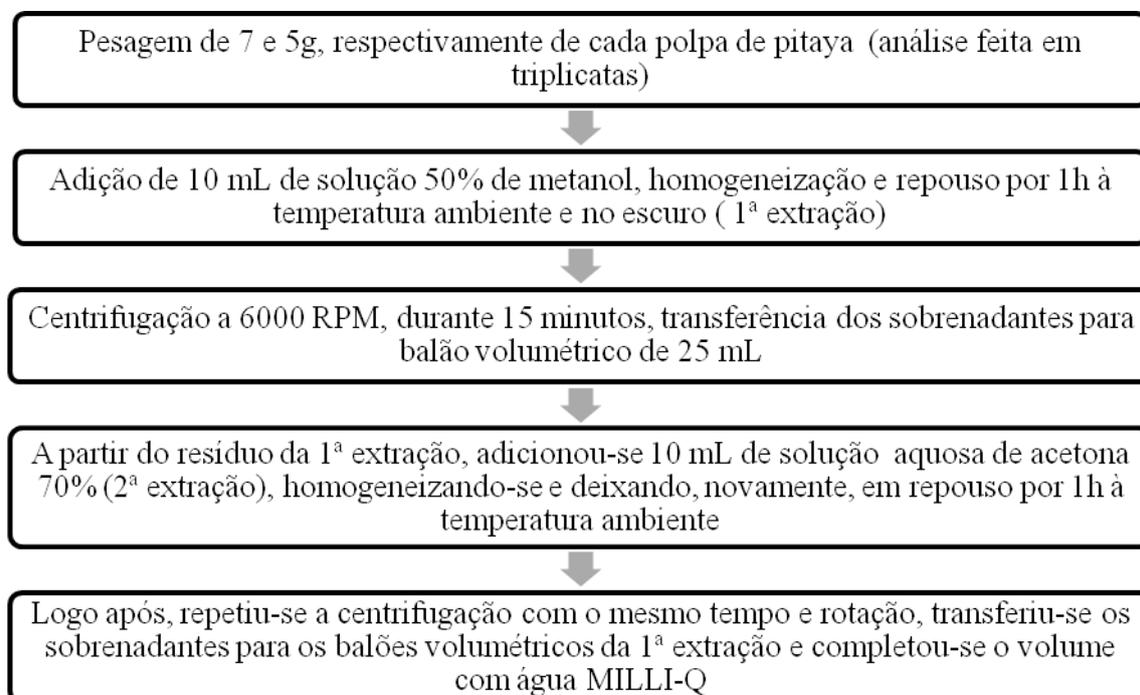


Figura 16 – Fluxograma para análise de atividade antioxidante

A combinação das duas extrações é importante, pois os ciclos de extração com solventes com diferentes polaridades maximizam a extração de compostos antioxidantes com polaridades diferentes (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

4.5.1 Determinação da capacidade antioxidante trolox equivalente (TEAC-trolox equivalent antioxidant capacity)

Inicialmente foi formado o radical ABTS^{•+}, a partir da reação de 7 mM de ABTS com 2,45 mM de persulfato de potássio, os quais foram incubados à temperatura ambiente e na ausência de luz, por 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorvância de 0,70 (\pm 0,01). Para realizar as análises, foram adicionados 30 μ L da amostra diluída a 1970 μ L da solução contendo o radical, determinou-se a absorvância em espectrofotômetro (modelo SHIMADZU) a 734 nm, após 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 minutos de reação. Como solução padrão, usou-se o antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 200 a 2000 μ M em etanol. Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em μ mol de Trolox por grama de amostra.

Preparou-se uma curva de calibração com a solução-mãe, diluindo-a nas seguintes proporções com etanol P.A 95%: 250 μ L, 750 μ L, 1250 μ L, 2500 μ L e 3750 μ L realizando-se as leituras no espectrofotômetro modelo SHIMADZU em um comprimento de onda de 734 nm (Quadro 1) com os resultados da leitura seguindo no quadro 2 e obtendo-se o gráfico com os pontos da curva mostrados na figura 27.

Para obtenção das curvas- padrão das amostras de pitayas de polpas branca e vermelha colocou-se os extratos obtidos, em tubos de ensaio, as análises foram realizadas em triplicatas. O branco foi realizado contendo 30 μ L de etanol P.A e a solução de radical ABTS^{•+} para cada triplicata. Transferiu-se uma alíquota de 30 μ L de cada extrato para tubos de ensaio e adicionou-se 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e homogeneizou-se em agitador de tubos, esperando em intervalos de meio minuto para cada adição. Realizou-se a leitura, em espectrofotômetro modelo SHIMADZU em um comprimento de onda de 734 nm.

A quantificação foi obtida através da reação dos extratos das amostras e o radical ABTS^{•+} durante 6 minutos, sendo a leitura da absorvância realizada em espectrofotômetro modelo SHIMADZU a 734 nm. Os resultados foram relacionados com a curva padrão de Trolox, sendo expressos em capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) em μ mol/g de amostra.

4.6 Determinação de pH

As amostras das polpas das pitayas foram homogeneizadas com agitador ultraturrax[®] e colocadas no recipiente do titulador automático, previamente calibrado, todas as análises foram executadas em triplicatas para cada polpa de pitaya. As determinações de pH foram realizadas em titulador automático Metrohm[®], modelo 785 DMP – Titrino, após calibração do aparelho com tampões de pH 4 e 7, segundo o método 981.12 da AOAC (2000).

4.7 Determinação de Acidez Total Titulável

As amostras das polpas das pitayas foram homogeneizadas com agitador ultraturrax[®] e colocadas no recipiente do titulador automático, previamente calibrado, fez-se todas as análises em triplicatas para cada polpa de pitaya. A acidez titulável das amostras das pitayas de polpas branca e vermelha (realizada em triplicatas) foi determinada em titulador automático Metrohm[®], modelo 785 DMP – Titrino, com reagente hidróxido de sódio fatorado com biftalato de sódio segundo o método n° 942.15 (AOAC, 2000).

Os valores foram expressos em g de ácido cítrico por 100g de amostra.

4.8 Determinação de Teor de Sólidos Solúveis (SS) ou °Brix

As análises foram feitas em triplicatas e o teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado em um refratômetro digital modelo Refractometer PAL-1 POCKET, da marca ATAGO, conforme a seqüência: as amostras de cada polpa de pitaya foram filtradas em malha de náilon e o filtrado colocado diretamente no aparelho, que registrou os valores de Brix para cada amostra de polpa. A análise foi feita em triplicatas.

4.9 Espectrometria de massas- preparo do extrato para coleta dos picos

A análise realizou-se conforme o fluxograma abaixo (figura 17) com a utilização do sistema de espectrometria de massas Synapt, marca Waters® (figura 18), com inserção direta dos mesmos:



Figura 17 – Espectrômetro de massas Synapt , marca Waters®

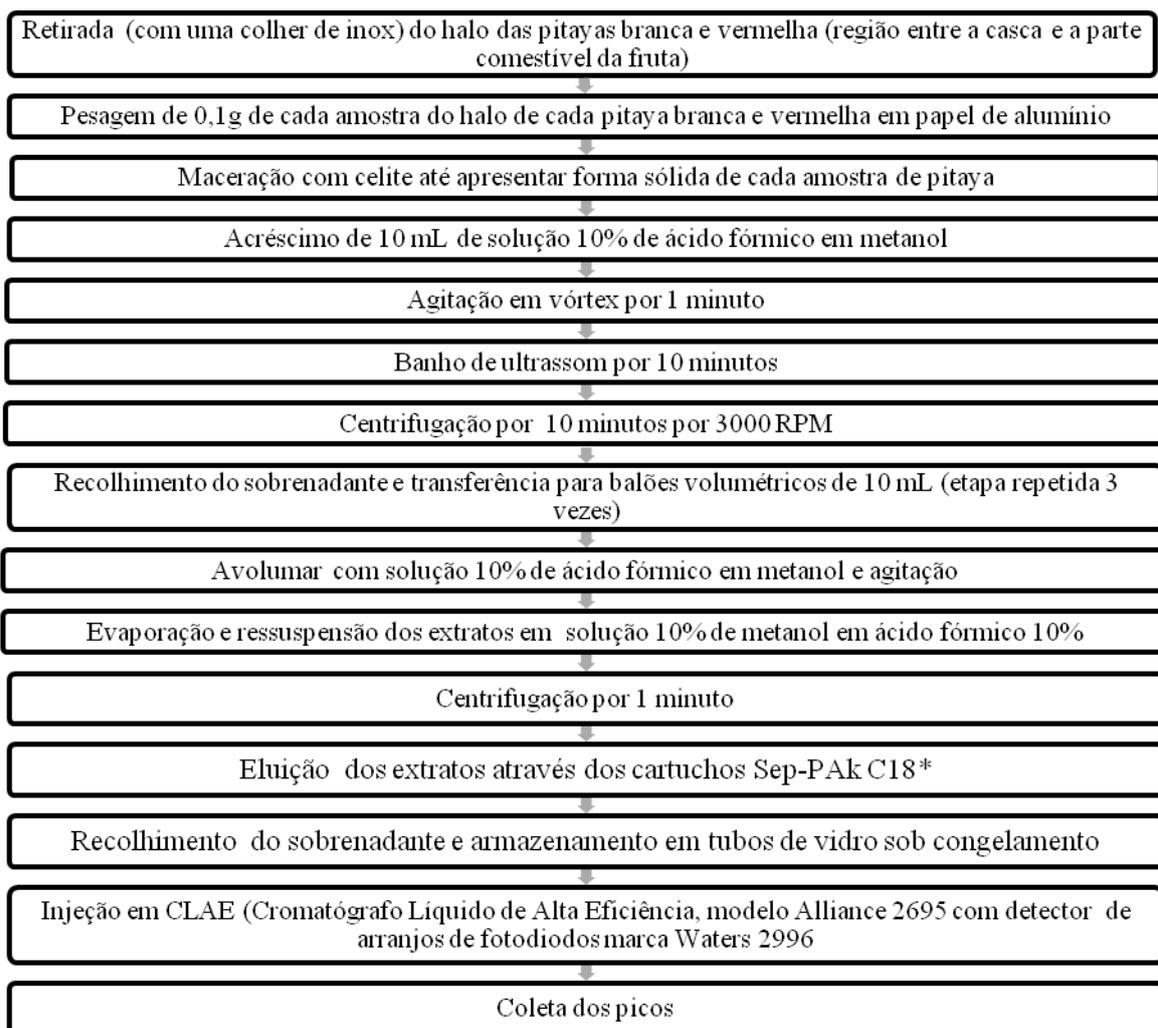


Figura 18 – Fluxograma da análise do preparo das amostras e coleta dos picos para espectrometria de massas em pitayas de polpas branca e vermelha

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados e discussões das análises realizadas nas amostras de pitayas foram apresentados a seguir.

5.1 Açúcares – Cromatograma da Pitaya de Polpa Branca

O cromatograma (Figura 19) expressa o padrão para o resultado da análise de açúcares.

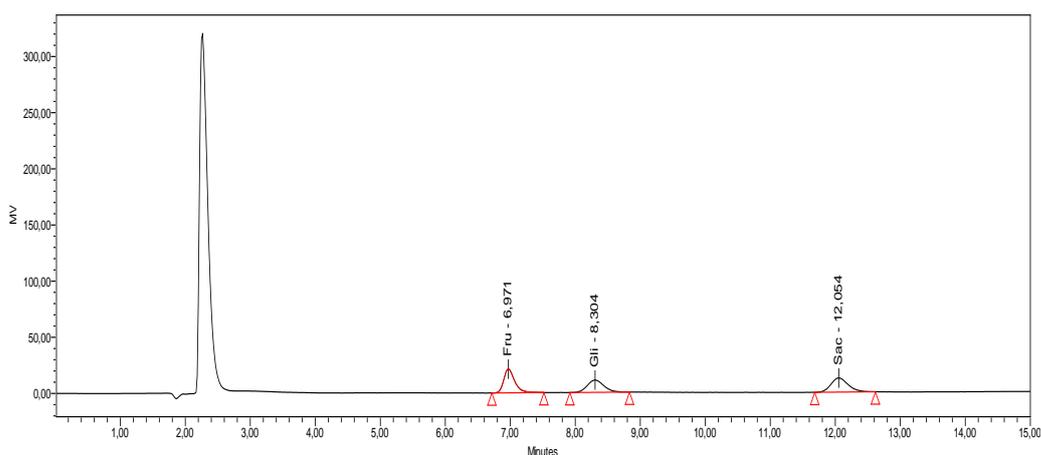


Figura 19 - Cromatograma padrão (frutose/ glicose/ sacarose)

O cromatograma (Figura 20) abaixo expressa o resultado da análise de açúcares na pitaya de polpa branca, com as seguintes concentrações:

- Frutose = 3,71g/100g
- Glicose = 7,39g/100g
- Sacarose = não detectada

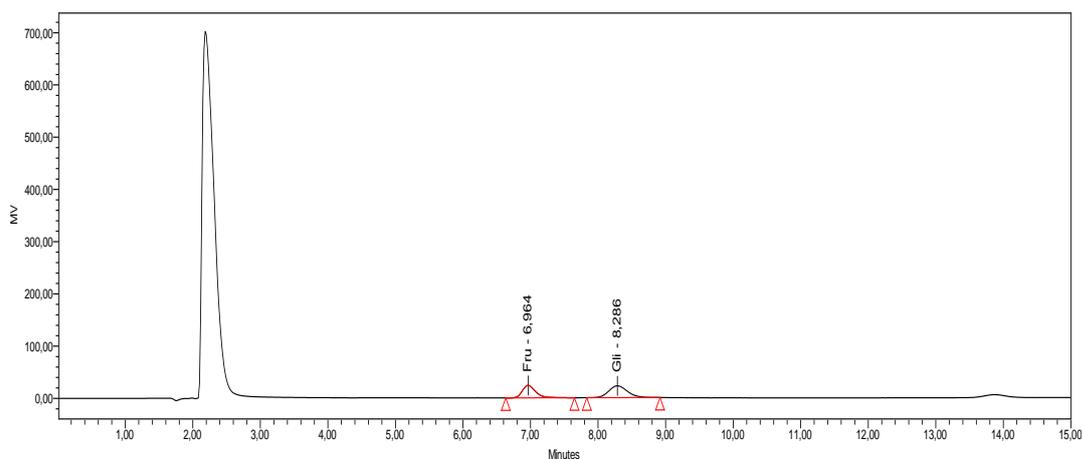


Figura 20 - Pitaya de polpa branca – cromatograma da amostra

5.2 Açúcares – Cromatograma da Pitaya de Polpa Vermelha

O cromatograma apresentou o mesmo perfil da pitaya de polpa branca. O resultado da análise de açúcares na pitaya de polpa vermelha apresentou as seguintes concentrações:

- Frutose = 4,25g/100g
- Glicose = 6,77g/100g
- Sacarose = não detectada

Os açúcares redutores como a glicose e frutose, podem ser responsáveis pela fermentação do alimento e considerando que a baixa concentração destes componentes encontrados nas polpas das pitayas analisadas, favorecerá sua vida útil, desde que sejam bem acondicionadas.

5.3 Vitamina C

5.3.1 Cromatograma padrão de vitamina C

O cromatograma (Figura 21) expressa o padrão para o resultado da análise de Vitamina C.

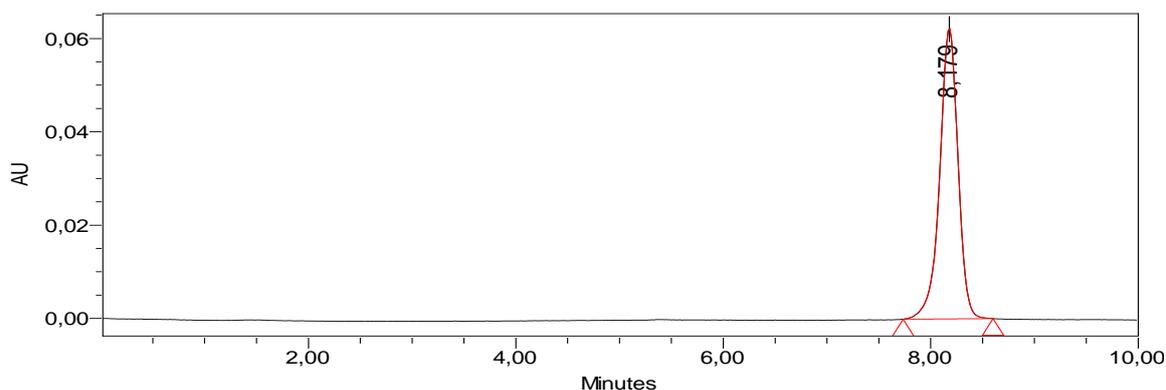


Figura 21 - Cromatograma padrão de vitamina C

5.3.2 Cromatograma da pitaya de polpa branca

O cromatograma (Figura 22) abaixo expressa o resultado da análise de Vitamina C na pitaya de polpa branca.

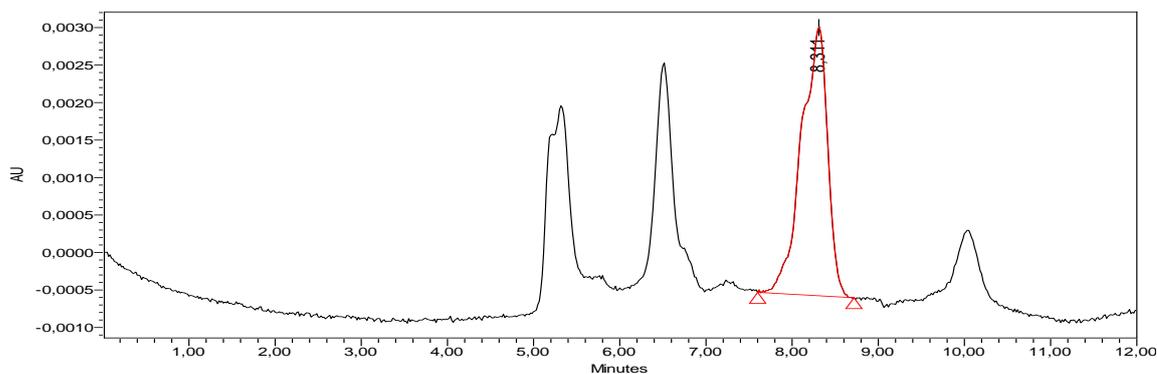


Figura 22 - Cromatograma da amostra de pitaya de polpa branca

Não foi possível quantificar a Vitamina C devido à presença de interferente coeluinto com o pico de interesse, o que pode ser observado pelo perfil do pico do cromatograma padrão (abaixo marcado). A presença da vitamina C, embora não quantificada, pode ser confirmada por comparação ao tempo de retenção e ao espectro do padrão. Ainda assim, pela escala é possível observar que a quantidade desta vitamina presente na amostra é muito baixa. A integração e a quantificação do pico marcado, considerando o interferente, resultou em uma concentração de 1,33 mg/100g.

5.3.3 Cromatograma da pitaya de polpa vermelha

O cromatograma (Figura 23) abaixo expressa o resultado da análise de Vitamina C na pitaya de polpa vermelha.

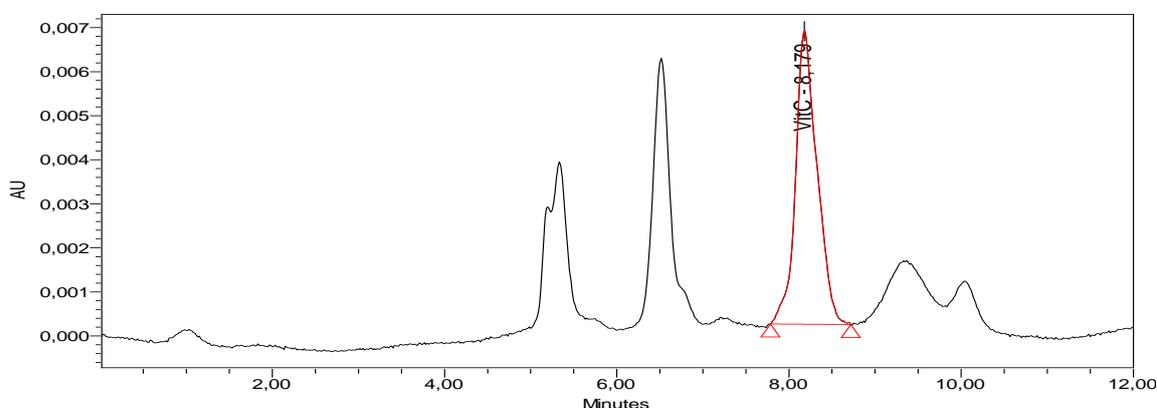


Figura 23 - Cromatograma da amostra de pitaya de polpa vermelha

A concentração encontrada de vitamina C nas amostras de pitaya de polpa vermelha, foi de 1,81mg/100g, considerando que a ingestão diária recomendada (IDR) dessa vitamina para adultos é de 45 mg, o valor encontrado é consideravelmente baixo (BRASIL, 2005). Os teores encontrados ainda são insuficientes para dimensionar uma atividade antioxidante adequada nas amostras das pitayas (*Hylocereus undatus* Haw) analisadas, pois segundo YU et al (2002), podem existir efeitos de outros compostos que são importantes para a capacidade antioxidante, além da vitamina C.

A análise em coluna de troca iônica favorece certas ações, como por exemplo, diminuição da temperatura, garantindo que tal nutriente não seja facilmente degradado, frente à outras técnicas, como a titulação, seus resultados são mais confiáveis.

Abaixo segue uma tabela de comparação (Tabela 3) e o gráfico (Figura 24) entre as quantidades de ácido ascórbico encontradas nas pitayas de polpas branca e vermelha e outras frutas como mamão formosa, camu-camu, jabolão e tomate, utilizando-se a CLAE como técnica de determinação.

Tabela 3 - Teores de Ácido ascórbico obtido através de CLAE em matrizes vegetais

Matriz	Teor de Vitamina C (mg/100g)
Jabolão ^a	1,3
Laranja ^a	66

Tomate ^b	21,03
Manga Tommy ^c	16,2
Mamão Formosa ^d	57,97
Morango ^e	72,05
Caju ^f	125,12
Camu-camu ^g	281
Pitaya de polpa branca	1,33
Pitaya de polpa vermelha	1,81

LEGENDA:

a = BARCIA et al, 2007.

b = ROSA, 2005.

c = OLIVEIRA et al, 2011

d = SHINAGAWA, 2009

e = SILVA et al,

f = ASSUNÇÃO, 2009

g = ZAMUDIO, 2007

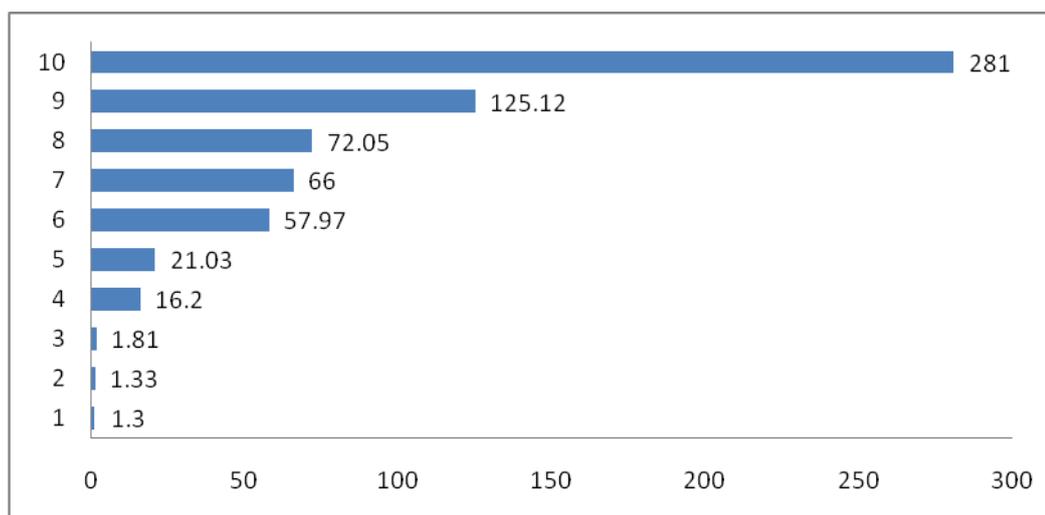


Figura 24 – Gráfico com os teores de Ácido ascórbico obtido através de CLAE em matrizes vegetais

5.4 Acidez Titulável e pH

Na Tabela 4 estão os valores encontrados de pH e acidez titulável nas pitayas de polpa branca e vermelha.

Tabela 4: Valores de pH e acidez titulável (média aritmética)

	Pitaya branca	Pitaya vermelha
pH	5,25	4,81
Acidez titulável (g de ácido cítrico/100g de fruta)	1,56%	2,76%

Faleiro et al (2010) , detectaram em estudos em pitayas da espécie *Hylocereus undatus* que o pH médio foi de 4,87.

Os valores encontrados podem confirmar que as amostras de pitaya vermelha têm maiores teores de açúcares que a de polpa branca (quadro 3).

Os valores de sólidos solúveis garantem às pitayas doçura compatível com frutas como laranja e maçã, respectivamente.

5.5 Sólidos Solúveis (° BRIX)

Na Tabela 5 encontram-se os valores para o teor de sólidos solúveis ou grau Brix das amostras de pitaya de polpa branca e vermelha.

Tabela 5 - Valores de graus brix das amostras de pitayas de polpa branca e vermelha

	Pitaya branca	Pitaya vermelha
Brix (%)	8,9	14,4

Os valores encontrados podem confirmar que as amostras de pitaya vermelha têm maiores teores de açúcares que a de polpa branca. Os valores de sólidos solúveis garantem às pitayas dulçor compatível com frutas como laranja e maçã, respectivamente.

Alguns estudos encontraram valores de Brix entre 13% a 16%, aumentando à medida que o fruto fica mais tempo junto à planta e sua casca adquirir uma coloração mais vermelha (NERD et al., 1999)

5.6 Antocianinas

Não foram encontradas quantidades consideráveis de antocianinas nas amostras de pitayas de polpas branca e vermelha. No entanto, houve presença desse corante no halo (região entre a casca e a polpa, figura 25) da pitaya de polpa branca, como mostra a figura 26, identificada como sendo a Cianidina-3-glicosídeo (BOBBIO; BOBBIO, 1995).

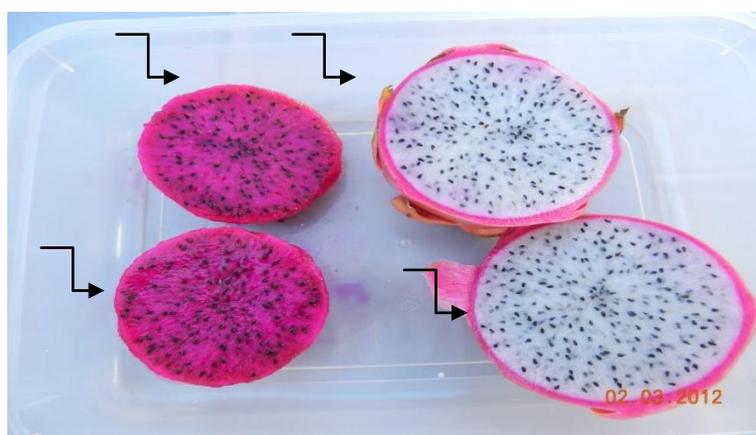


Figura 25 – Identificação (setas) da região chamada de Halo nas pitayas de polpas vermelha e branca, respectivamente.

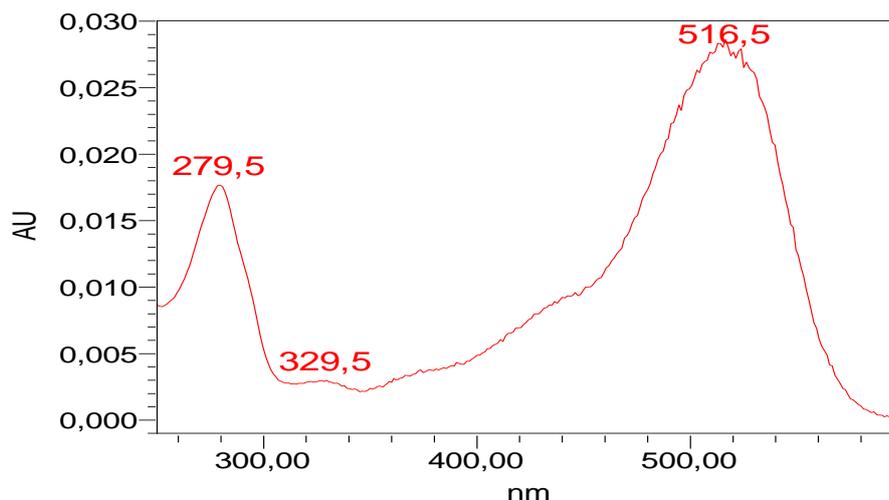


Figura 26 - Espectro U.V Visível retirado do cromatograma do halo da pitaya de polpa vermelha

5.7 Atividade Antioxidante Trolox Equivalente (TEAC-Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

Os cálculos para as curvas de calibração e determinação da atividade antioxidante são mostrados a seguir:

5.7.1 Construção da curva de calibração – Trolox em etanol P.A 95%

Para a curva de calibração do Trolox (6-hidroxi – 2,5,7,8 – tetrametilchroman- 2-ácido carboxílico), com pureza de 97%, peso molecular igual a 250,29g/mol, utilizou-se 4,85 mg dessa substância que foram dissolvidos em 10 mL de etanol P.A 95%. Os dados foram expressos em μM de Trolox. Os valores de massa e volume foram convertidos em g e em litros, respectivamente e empregados na equação abaixo:

Concentração da solução – mãe de Trolox:

$$C = (\text{massa da substância}/\text{massa molecular})/\text{volume da solução}$$

$$C = (0,00485/250,29)/0,01$$

$$C = 0,002 \text{ mol.L}^{-1} \text{ equivale a } 1940 \text{ mM, considerando a pureza da substância}$$

Os dados abaixo reportam aos dados para a construção da curva-padrão do Trolox (Quadros 2 e 3) e logo após o gráfico (Figura 27) mostra o comportamento da curva-padrão.

Quadro 2 – Dados para o preparo das soluções para curva-padrão do Trolox

Solução padrão de trolox (μL)	Álcool etílico (μL)	Concentração final (μL)
250	4750	5000
750	4250	5000
1250	3750	5000
2500	2500	5000
3750	1250	5000

Quadro 3 – Leitura dos valores de concentração e absorvância para curva padrão de Trolox

Concentração	Absorvância
96.9	0.027
96.9	0.035
96.9	0.027
290.7	0.117
290.7	0.121
290.7	0.123
488.3	0.191
488.3	0.187
488.3	0.183
968.9	0.378
968.9	0.361
968.9	0.373
1457.2	0.545
1457.2	0.563
1457.2	0.590

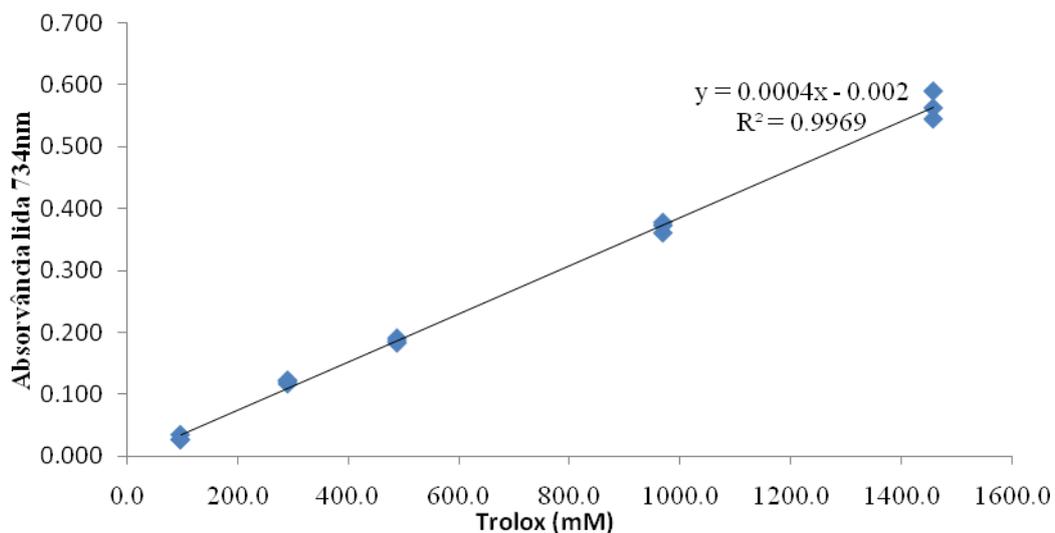


Figura 27 – Gráfico da curva padrão de Trolox

Com os dados dos quadros abaixo (Quadro 4, 5, 6 e 7), construiu-se os gráficos da equação da reta das pitayas de polpas branca e vermelha (Figuras 28 e 29), respectivamente:

Quadro 4 - Valores correspondentes à pitaya de polpa branca

Amostra	massa (g)	Volume do Extrato	Concentração (g/L)	Abs controle	Abs amostra	Abs (branco-amostra)	Trolox na solução	μM Trolox/g	Média
Pitaya de	6,6422	0,025	265,69	0,674	0,505	0,169	422,00	1,59	1,43
	6,7566	0,025	270,26	0,674	0,524	0,150	374,50	1,39	1,36

polpa branca	6,7604	0,025	270,42	0,674	0,530	0,144	359,50	1,33	2,24
-----------------	--------	-------	--------	-------	-------	-------	--------	------	------

Quadro 5 - Valores correspondentes à pitaya de polpa vermelha

Amostra	massa (g)	Volume do Extrato	Concentração (g/L)	Abs controle	Abs amostra	Abs (branco- amostra)	Trolox na solução	µM Trolox/ g	Média
Pitaya de polpa vermelha	4,4147	0,025	176,59	0,674	0,451	0,223	557,00	3,15	2,99
	4,5859	0,025	183,44	0,674	0,461	0,213	532,00	2,90	2,90
	4,9015	0,025	196,06	0,674	0,446	0,228	569,50	2,90	2,90

Quadro 6 - Valores correspondentes à pitaya de polpa branca (leitura das triplicatas)

Concentração (triplicatas)	Absorvância (nm)
422	0,169
422	0,150
422	0,144
374,5	0,150
374,5	0,144
374,5	0,000
359,5	0,144
359,5	0,000
359,5	0,223

Quadro 7 - Valores correspondentes à pitaya de polpa vermelha (leitura das triplicatas)

Concentração (triplicatas)	Absorvância (nm)
557	0,223
557	0,213
557	0,228
532	0,213
532	0,228
532	0,000
569,5	0,228
569,5	0,000
569,5	0,000

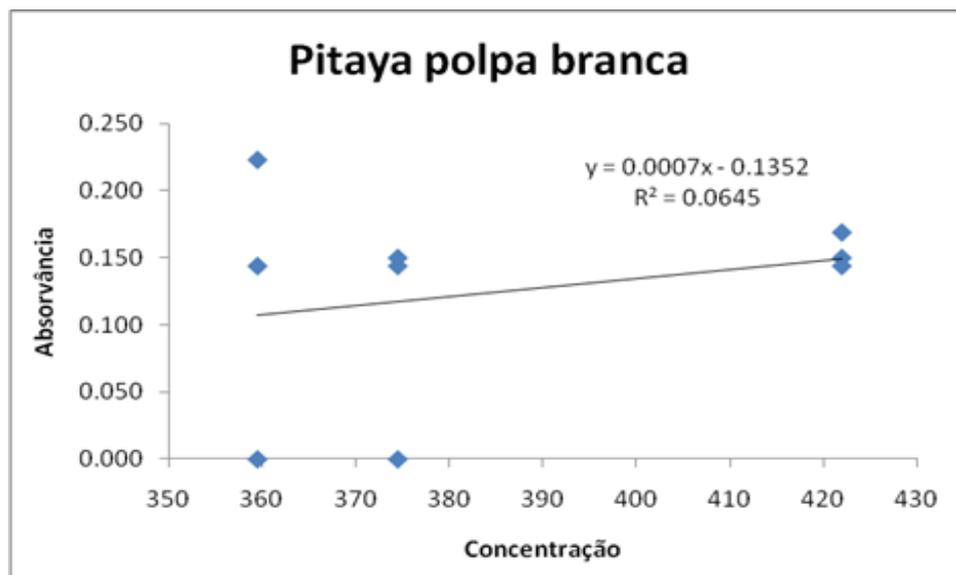


Figura 28 - Gráfico da equação da reta – pitaya de polpa branca

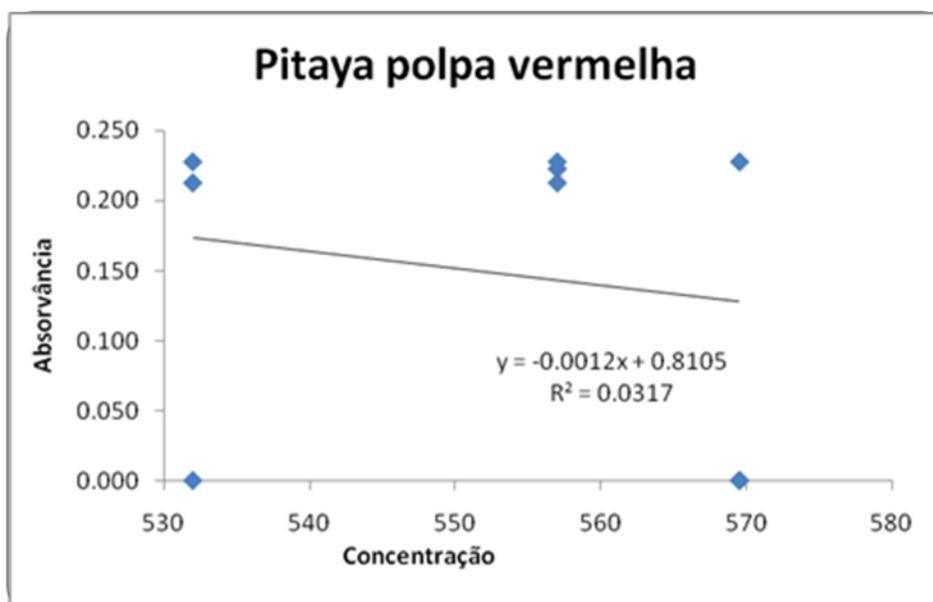


Figura 29 - Gráfico da equação da reta – pitaya de polpa vermelha

Os valores encontrados nas pitayas analisadas correspondem à baixa capacidade antioxidante nessas frutas, provavelmente devido à sua maturação incompleta. Dentre os métodos químicos utilizados na determinação da capacidade antioxidante (captação de radicais livres), o radical ABTS é um dos que apresentam resultados reproduzíveis, coerentes e mais rápidos, além de sua solubilidade ser boa, tanto em compostos de natureza lipofílica como hidrofílica e possuir vários máximos de absorção (KUSKOSKI et al., 2005).

Ainda segundo Kuskoski et al (2005), essa capacidade antioxidante é dada principalmente ao conteúdo de compostos fenólicos e antocianicos. Xu et al (2008), relataram, em estudos de variedades de frutas cítricas na China, que os coeficientes de correlação de ácido ascórbico, fenólicos totais e os ácidos fenólicos, indicam que o principal componente contribuinte para a atividade antioxidante total em sucos cítricos é o ácido ascórbico.

Righetto et al (2005), relataram que a vitamina C e os componentes fenólicos são os componentes mais importantes para o aumento na capacidade antioxidante em sucos de acerola, por exemplo.

5.8 Análise da Espectrometria de massas

Detectou-se a presença de antocianinas, utilizando-se a técnica de espectrometria de massas como mostra a figura 30, no halo da pitaya de polpa branca (região entre a casca e a polpa), observando-se o pico majoritário e acima a região onde ocorre a presença de tal corante. No entanto, não foi possível detectar a presença de antocianinas nas amostras das pitayas de polpa vermelha, devido a alguns problemas técnicos durante a coleta dos picos nessa amostra.

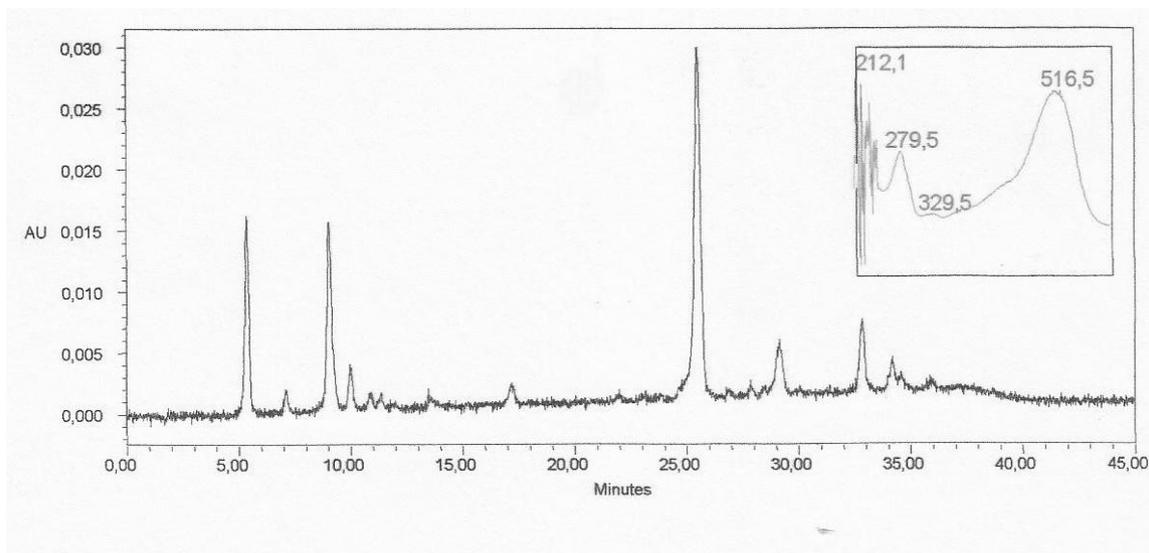


Figura 30 - Cromatograma do halo da pitaya de polpa branca

6 CONCLUSÃO

Através da CLAE, não foi possível detectar índices significativos para os teores de vitamina C e antocianinas nas polpas das pitayas analisadas. Em se tratando das antocianinas, por se tratar de um corante que degrada rapidamente, a sua presença mostrou-se irrisória nesse alimento, necessitando de mais análises e padronizações em condições mais específicas de monitoramento.

A baixa quantidade de atividade antioxidante deve-se, primeiramente, ao tempo de armazenamento, que diminui os teores desses analito.

Quanto ao pH e acidez total titulável (g de ácido cítrico/100g de fruta) por se tratar de uma fruta exótica e de recente consumo no nosso país, precisam, ainda, ser monitorados e analisados, possivelmente, sob condições de cultivo controlado desse alimento.

Enfim, por não ter valores referentes às quantidades dos analitos estudados nas literaturas consultadas, não foi possível fazer comparações, contudo foram feitas as análises que poderão servir como padrão de referência para trabalhos futuros ou como base para o estabelecimento dos Padrões de Identidade e Qualidade das pitayas analisadas.

7 SUGESTÕES

Diante dos resultados encontrados, sugere-se:

- Um estudo mais aprofundado sobre a composição centesimal nas espécies de pitayas das polpas branca e vermelha;
- Isolamento das espécies de corantes que estão presentes nessa fruta, para caracterizá-la como um alimento antioxidante, pois, uma caracterização extensiva e global que esse valor real ainda não foi feito;
- Análise dos compostos fenólicos das cascas e das polpas das pitayas analisadas;
- Determinar a quantidade de energia fornecida pelas pitayas de polpas branca e vermelha.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD ALLAH, M. A.; ZAKI, M .S. A. Preservation of mango juice by freezing and canning. **Lie Narung**, [S.l.], v.18, p.207-16, jan./jun.1974.

ADA. American Dietetic Association. **Position of the American Dietetic Association: functional foods**, 1999. v.10. p.1278-1285.

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP, 2010. 349 p.

AGUIAR, L. P. **β -caroteno, vitamina C e outras características de qualidade de acerola, caju e melão em utilização no melhoramento genético**. 2001. 87f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

AMARAL, D. M., et al. Efeito inibidor de substâncias antioxidantes existentes no vinho tinto na aterogênese experimental no coelho. **Vittale**, v.7, p. 17-24, 1995.

ALVARENGA, L. R.; FORTES, J. M. Cultivares de fruteiras de clima temperado. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 124, p. 3-24, abr./jun.1985.

ANDERSEN, O. M. Anthocyanin occurrences and analyses. In: **Oral presentation at International Workshop on Anthocyanins**, Adelaide, v. 55, n. 3, p. 17-19, Abr. 2002.

ANDERSEN, O. M.; FOSSEN, T. Anthocyanins with an unusual acylation pattern from stem of allium victorialis. **Phytochemistry**, v. 40, n. 6, p.1809-1812, jun./dez.1995.

ANJO, Douglas Faria Corrêa. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular-artigo de revisão. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n.2, 2004. Disponível em: <<http://www.jornalvascularbrasileiro.com.br>. Acesso em: 28 jun. 2012.

ASSOCIATION of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis**, 17. ed. Washington, D. C., 2000.

ASSUNÇÃO, Raquel Braz. **Carotenoides e vitamina C em produtos processados de caju em frutos in natura de diferentes variedades e localizações geográficas**. Disponível em:< <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000206417>>. Acesso em: 10 maio 2012.

BARCIA, Milene Teixeira et al. Determinação de ácido ascórbico e tocoferóis em frutas por CLAE. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.2, p.381-390, abr./jun.2010.

BASTOS, D. C. et al. Propagação da pitaya vermelha por estaquia. In: **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, vol.30, n. 6, p. 36-48, nov./dez. 2006.

BELITZ, H. D.; GROSH, W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1997.

BENDER, A. E. **Food processing and nutrition**. London: Academic Press, 1978. 243p.

BERNHARDT, L.W. et al. Mudanças que ocorrem durante o armazenamento de frutas e hortaliças congeladas. **Bol. Inst. Tecnol. Alim.**, [S.l.], v.16, n. 2, p.9-34, jul./set.1979.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**. v. 12, n.2, p. 123-130, 1999.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2. ed. Campinas: Varela, 1995, 223p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Título**. Disponível em:< <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>>. Acesso em: 31 abr. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. **Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**. Disponível em:< <http://www.ivegetal.com.br/cvegetal/Legisla%C3%A7%C3%A3o%20Correlata%5CPortaria%20n%C2%BA%20398%20de%2030%20de%20abril%20de%201999.pdf>>. Acesso em 05 jul. 2010.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC ANVISA nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, D.F, 22 set. 2005. Seção 1, p.12384.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução **CNNPA nº 12, de março de 1978**. Fixa padrões de identidade e qualidade para alimentos e bebidas desta resolução. Disponível em:< http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/360_03rdc.htm>. Acesso em: 28 mar. 2012.

BRAUSE, A. R.; WOOLLARD, D. C.; INDYK, H. E. Determination of total vitamin C in fruit juices and related products by liquid chromatography: interlaboratory study. **Journal of AOAC International**, [S.l.], vol. 86, n. 2, p. 367-374, out./dez. 2003.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, [S.l.], v. 56, n. 11, p. 317-333, jan./jun. 1998.

BRENNA, O. V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v. 49, n. 10, p. 4841-4844, out. 2001.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural foodcolours: selected aspects. **Food chemistry**, [S.l.], v.58, n.1, p.103-109, jan.1997.

BROUILLARD, J. R. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins a food colors**. Academic Press: New York, 1982. cap.1, p. 263.

BUTERA, D. et al. Antioxidant activities of sicilian prickly pear (opuntia ficus indica) fruit extracts and reducing properties of its betalains:betanin and indicaxanthin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v.50, n. 10, p. 6895-901, out./dez. 2002.

CAMARGO, R. et al. **Tecnologia de produtos agropecuários**. São Paulo: Nobel, 1984. 310p.

CÂNDIDO L. M. B; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais: uma revisão. **Boletim da SBCTA**, [S.l.], v. 29, n. 2, p. 193-203, out. 2005.

CÂNDIDO, Lys Mary Bileski; CAMPOS, Adriane Mulinari. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Varela, 1995.

CANTO, A. R. **El cultivo de pitahaya en Yucatan**. México: Universidad Autónoma Chapingo, 1993. 53p.

CAO et al. **Antioxidante e pró-oxidantes do comportamento flavonóides**: estrutura e relacionamentos. [S.l : s.n],1997.

CASTRO, M. R. S. **Cinética da degradação do ácido ascórbico em polpas de frutas congeladas in natura**. 2005. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência) Instituto de Tecnologia, Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

CARVALHO, Paulo Costa et al. Marcadores séricos e espectrometria de massa no diagnóstico do câncer. **Revista J Bras. Patol. Med. Lab**, v. 42, n. 6, p. 431-436, dez./2006.

CECCHI, Heloísa Máscia. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2.ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003.

CIOLA, R., **Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho**. São Paulo: Edgard Blücher, 1998.

COLLI, C. Nutracêutico é uma nova concepção de alimento. **Notícias SBAN**, v.1, p.1-2. 1998.

COULTATE, T.P. **Alimentos: A química de seus componentes**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368p.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n.3, p 15-19. maio, 2010.

CRANE, J. H.; BALERNI, C. F. **Pitaya growing in the Florida home Landscape**. Orlando: FAS, 2005. 9p.

CRAVEIRO, Alexandre Cabral; CRAVEIRO, Afrânio Aragão. **Alimentos funcionais – a nova revolução**. Fortaleza, PADETEC, 2003.

CRITTENDEN, R. G.; PLAYNE, M.J. Production, properties and applications of food-grade oligossacarides. **Trends in Food Science & Technology**. v.7, n.11, p.353-361, 1996.

DONADIO, L.C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, n.3, 2009. p.637-929.

DONADIO, L. C; SADER, A. D. **Curso de pitaya**. Jaboticabal: Funep/Unesp, 2005. 16p.

- ESCOLA Superior Agrária de Ponte de Lima. **U.C inovação alimentar**. 29 out 2007.
Disponível em:
<http://www.ci.esapl.pt/sofia/alimentos%20funcionais_origem%20e%20defini%C3%A7%C3%A3o.pdf> . Acesso em: 10 nov. 2010.
- FAGUNDES, R. L.M.; COSTA, Y.R. Uso de alimentos funcionais na alimentação. **Higiene Alimentar**. v. 17, p. 47, 2003.
- FALEIRO, F. G. et al. **Caracterização físico-química e de compostos funcionais em frutos de pitaya**. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 21, 2010. Natal: SBF, 2010.
- FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993.
- FERNANDES, M. S., Perspectivas de mercado da fruta brasileira. In: Congresso Brasileiro De Fruticultura, 2006, Cabo Frio, 2006. **Anais...** Cabo Frio: SBF, 2006. p. 9.
- FIORUCCI, A. R. A Importância da Vitamina C na Sociedade através dos tempos. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v.17, maio 2003.
- FOSSEN, T.; ANDERSEN, O. M., Characteristic anthocyanin pattern from onions and others *Allium* pp. **Journal of Food Science**, v.61, n.4, p. 703-706, fev.1996.
- GAZZONI, D. L. **Valor nutritivo da soja e potencial de utilização na dieta brasileira**. Londrina: EMBRAPA, 1998.
- GERMAN, B.; DILLARD, C.J. Phytochemical: nutraceutical and human health. **Reviews. J Sci Foods Agri**. v. 80, p. 1744-1756, 2000.
- GLÄSSGEN, W. E., SEITZ, H. U.; METZGER, J. W. **Biological Mass Spectrometry**, v.21, p.271-277, 1992.
- GOMES, P. M. de A.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. de M. Caracterização e isotermas de adsorção de umidade da polpa de acerola em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.2, p.157-165, mar./abr. 2002.
- GONNET, J. F. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-1: a colorimetric definition using the CIELAB scale. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 63, n.3, p. 409-415, jul./ago. 1998.
- GUO, C. et al. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, Washington, v.23, n.12, p.1719-1726, jan./dez. 2003.
- GUTHRIE, H. A. **Introductory nutrition**. 7. ed. St. Louis: Mosby, 1989. 394p.
- HARBONE, J. B.; SAITO, N.; DETONI, C. H. Anthocyanins of cephaelis, ynomorium, euterpe, lavadera and pinanga. **Biochemical Systematics and Ecology**, [S.l.], v. 8, n.2 p. 835-836, set. 1994.

HASLER C. M. Functional foods: their role in disease in: developing new food products for a changing prevention and health promotion. **Food Technology**, [S.l.], v. 52, n. 2, p.57 - 62, out./dez. 1998.

HOA, T. T. et al. Postharvest quality of dragon fruit (*hylocereus undatus*) following disinfecting hot air treatments. **Postharvest Biology and Technology**, [S.l.], v. 41, n.1, p. 62-69, jul. 2006.

HONG et al. Análise e atividades biológicas de antocianinas. **Fitoquímica**, [S.l.], v. 64, n.3, p. 923-933, jun. 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. São Paulo: [s.n], 2005, 533p.

JACKMAN, R.L. et al. Anthocyanins as food colorants: a review. **Journal Food Biochemistry**, [S.l.], v.11, n. 2, p.201-247, jan.1987.

KHALILI, R. M. A. et al. Composição centesimal e mineral da pitaya vermelha (*hylocereus* spp.) na determinação de compostos orgânicos. **J. Trop. Agric**, [S.l.], v. 34, n. 95, p. 234-306, ago. 2006.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n.4, p. 726-732, 2005.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE**. Campinas, SP: Átomo, 2009. 382p

LE BELLEC, F.; IMBERT, E. Vaillant pitahaya (*hylocereus* spp.): uma nova colheita de fruta, um mercado com um futuro. **Frutas**, [S.l.], v. 61, n.4, p. 237-250, out. 2006.

LÓPEZ, O.P. et al. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews Food Science Nutrition**. v. 40, n. 3, p.173-289, 2000.

LIRA, R. C. **Valor nutricional e utilização de resíduo da goiaba (*psidium guajava* l) e do tomate (*lycopersicum esculentum* mill.) na alimentação de frango de corte**. 2008, 92p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

MACRAE, R. **Food science and technology a series of monography: HPLC in food analysis**. 2.ed. [S.l.]: Academic Press, 1998. 77p.

MALACRIDA, R. C.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do CEPPA**, [S.l.], v. 24, n. 1, p. 59-82, mar./abr. 2006.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas em extratos naturais. **Química Nova**, [S.l.], v. 31, n. 5, p. 1218-1223, nov./dez. 2008.

MARKAKIS, P. A estabilidade das antocianinas em alimentos. In: MARKAKIS, P. **Antocianinas como corantes alimentares**. New York : Academic Press, 1982, p.163-180.

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

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

MILLER, N. J. et al. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. **FEBS Letters**, [S.l.], v. 10, n. 384, p. 240-242, jan./abr.1996.

MITHEN, R.F. et al. The nutritional significance and bioavailability of glucosinolates in human foods review. **J Sci Foods Agri**, v.80, p.967-984. 2000.

MODLER, H. W. Bifidogenic applications. **International Dairy Journal**. v.4, p. 383-407, 1994.

MONTEIRO, E. O.; MARIN, C. T. Alimentos funcionais. **Revista Brasileira de Medicina**. Disponível em:< <http://www.moreirajr.com.br>>. Acesso em: 18 abr. 2011.

MORAES F. P.; COLLA L. M. Alimentos funcionais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n.2, p. 99-112, jan. 2006.

NERD, A.; MIZRAHI, Y. Reproductive biology of cactus fruit crops. **Horticultural Reviews**. [S.l.], v.18, n.3, p.321-346, nov.1997.

Nerd, A., F. Gutman, and Y. Mizrahi. 1999. Ripening and Post Harvest Behavior of Fruits of Two *Hylocereus* species (Cactaceae). **Postharvest Biology and Technology**. v.17, p. 39-45.

NYMAN, N. A.; KUMPULAINEN, J. T. Determination of anthocyanidins in berries and red wine by high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 49, n. 9, p. 4183-4187, set. 2001.

NOONAN W. P; NOONAN C. Legal requirements for “functional foods” claims. **Toxicology Letters**, [S.l.], v. 150, n. 24, p. 19-24, out. 2004.

NOVAIS, Vera Lúcia Duarte de. **Química**. São Paulo: Atual, 2009. v.3. 499p.

OLIVEIRA, Daniela da Silva et al. Vitamina C, carotenóides, fenólicos totais e atividade antioxidante da goiaba, manga e mamão procedentes da CEASA do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Health Sciences**. Maringá, v.33, n.1, p.89-98. 2011.

ORTIZ, H. Y. D.; LIVERA, M. M. La pitahaya (*hylocereus spp*): recurso genético de américa. In: PIMIANTA, B. et al. **Memorias del 6 Congreso Nacional y Internacional sobre el conocimiento y provechamiento del nopal**. Guadalajara : [s.n.], 1995. p. 191-194.

ORTIZ, H. Y. D. **Pitaya**: un nuevo cultivo para México. México: Limusa. 1999. 111p.

PADILHA, Patricia de Carvalho; PINHEIRO, Rosilene de Lima. O papel dos alimentos funcionais na prevenção e controle do câncer de mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**. [s.l.], v. 50, p. 251-260, 2004.

PARK, K. J. ; ANTONIO, G. C. **Análises de materiais biológicos**. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2006. 21 p.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Metodologia de atualização para determinar a capacidade antioxidante em alimentos vegetais, óleos e bebidas: medição de extração, e expressão dos resultados, **Food Research International**.v. 41, n.3, 2008, p. 274-285.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. [S.l.]: Varela, 2005. 95p.

POLLONIO, Mar. Alimentos funcionais: as recentes tendências e os envolvidos no consumo. **Higiene Alimentar**. v.14, p. 26-31, 2000.

POMINE, V. H.; MOURÃO, P. A. de S. Carboidratos. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 233, dez. 2006, p. 13-34.

PORTAL do Agronegócio. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=62947>>. Acesso em: 28 mar. 2012.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e alimentos Gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v.24, n.4, jul. /ago. 2005.

RAVEH, E. ; MIZRAHIA, J. W. ; NERD, Y. **Pitayas (*hylocereus* gênero): uma nova colheita de frutas no deserto de Neguev de Israel**. Nova Iorque: Culturas, 1993. 495p.

RE, R et al. A atividade antioxidante da aplicação de um ensaio de Descoloração melhorou o cátion radical ABTS⁺ . **Free Radical Biology & Medicine**. v. 26, p. 1231-1237,1999.

REIG A. L. C; ANESTO J. B. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. **Revista Cubana de Alimentação e Nutrição**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 63-8, fev. 2002.

REVISTA Globo Rural. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Revista/Common/0,,GF83325-18156,00-PITAIA+EXOTICA+DELICADEZA.html#fotogaleria=3>>. Acesso em: 25 jun. 2012.

RIBEIRO, E. P; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 2.ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2007. 184 p.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M.; CARRARO, F. Chemical composition and antioxidant activity of juices from mature and immature acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Food Sci. Technol.**, London, v.11, n.4, p.315-321, 2005.

ROBERFROID, M. Functional food : concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, [S.l.], v. 34, n. 2, mar. 2002. p. 105-106.

ROJAS-BARQUERA, D. ; NARVAEZ-CUENCA, C. E. Determinación de vitamina C, compuestos fenolicos, fenolicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*psidium guajava* L.) cultivadas en Colombia. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 9, 2009.

Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n9/v32n9a19.pdf>>. Acesso em: 23 maio 2012.

ROSA, Jeane do Santos da. **Desenvolvimento de um método rápido para análise de vitamina C por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, utilizando coluna de troca iônica**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

ROSA, J. S. da et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, [S.l.], v.27, n.4, p. 837-846, jun./jul. 2007.

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 56p.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S.l.], v. 42, n. 1, p. 1-16, jan. 2006.

SAKO, T.; MATSUMOTO, K.; TANAKA, R. Recent progress in research and application of non-digestible galacto-oligosaccharides. **International Dairy Journal**. v. 9, p.69-80, 1999.

SALGADO, JOCELEM MASTRODI. **Alimentos Funcionais**. Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais. Artigo concedido ao site oficial da organização. 2005.

SANTIAGO, M. C. P. de A. et al. **Adaptação de um método por cromatografia líquida de alta eficiência para análise de antocianinas em suco de açaí (euterpe oleraceae mart.)**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2010. 77p.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**. v. 17, n. 2, p.227-236, 2004.

SHARMAN, I.M. **Vitamin C**: Historical aspects, in vitamin C, Recent Aspects of its Physiological and Technological Importance. GG Birch and KJ Parker Editors; Halsted Press Book, Wiley: Nova York. 1974. p.1-15.

SHI, Z.; LIN, M.; FRANCIS, F.J. Anthocyanins of *Tradescantia pallida*: Potential food colorants. **Journal of Food Science**, [S.l.], v.57, n. 3, p. 761-765, mar.1992.

SHINAGAWA, Fernanda Branco. **Avaliação das características bioquímicas da polpa de mamão (*carica papaya L*) processada por alta pressão hidrostática**. 2009. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

SILVA, Polyanna Alves et al. **Determinação de vitamina c em morango por HPLC**. Sociedade Brasileira de Química, 2009. Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T2032-1.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2012.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 6. ed. Fort Worth: Saunders College Publishing, 1997. 849p.

SNYDER, C.H. **The extraordinary chemistry of ordinary things**. 2.ed. Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1995. p. 492-493; 503-506 e 507-509.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, set. 2002.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

STRACK, D.; WRAY, V. Anthocyanins, In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Methods in plant biochemistry**. New York : Academic Press, 1989. p. 325-356.

STRACK, D.; WRAY, V. The anthocyanins. In: HARBORNE, J. B. **The Flavonoids: advances in research since 1986**. Boca Raton: Chapman & Hall, 1994. p.122.

STRINGHETA, Paulo César.; BOBBIO, Paulo A. Uso de corantes naturais em alimentos processados. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.14. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio14/copigment.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2010.

TERAHARA, N. et al. Malonylated anthocyanins in Verbena flowers. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 28, n.5, p. 1507-1508, ago. 1989.

THÉ, P.M.P. **Efeitos da associação de tratamento hidrotérmico, cloreto de cálcio e atmosfera modificada sobre o escurecimento interno e qualidade do abacaxi cv. Smooth Cayenne**. 2001. 128 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

THOMSON, P. **Pitahaya (hylocereus species)** : a promising new fruit crop for southern California. Bonsall,CA : Bonsall Publications, 2002. 64p.

TOMOMATSU, H. Health effects of oligossacarídeos. **Food Technology**. v. 48, n.10, p.61-65, 1994.

VORAGEN, A.G.J. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. **Trends in Food Science & Technology**. v. 9, p.328-335, 1998.

WILSKA, J.; KORZUCHOWSKA, A. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation : influence on the colour of strawberry and chokeberry juices. **Lebensm Unters Forsch**, [S.l.], v. 203, n. 5, p. 38-42, out.1996.

WROLSTAD, R. E. Anthocyanins pigments : bioactivity and coloring properties. **Journal of Food Science**, [S.l.], v. 69, n. 5, nov. 2004, p. 419-421.

XU, G. et al. Juice component and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. **Food Chem.**, Londres, v.106, p. 545-551.

YU, L. et al. Free radical scavenging properties of wheat extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 50, n. 6, p. 1619-1624, abr. 2002

ZAMUDIO, Luz Haydee Bravo. **Caracterização de Vitamina C em frutos de Camu-camu *Myrciaria dúbia* (H.B.K) em diferentes estágios de maturação do Banco Ativo de Germoplasma de Embrapa.** Brasília, 2007. 104p. Disponível em:
<http://www.bdm.bce.unb.br/bitstream/1.483/157/1/2007_LuzHaydeeBravoZamudio.pdf>.
Acesso em: 10 maio 2012.

ZEE, F.; YEN, C.R.; NISHINA, M. Pitaya: dragon fruit, strawberry pearl. **Fruits e Nuts**, Hawaii, v.9, n.2, jun., p. 1-3, 2004,.

ANEXO - Preparo de soluções para determinação da atividade antioxidante

SOLUÇÃO ESTOQUE DE ABTS 7 mM

Pesou-se 0,1920g de ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzenotiazolina-6-ácido sulfônico) peso molecular igual a $548,68 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, adicionando-se 30 mL de água destilada e deixando-se homogeneizar sob agitação magnética por 15 minutos, logo após, colocou-se em balão volumétrico de 50 mL e completou-se com água destilada, acondicionando-se em frasco âmbar, devidamente identificado e guardando-se sob refrigeração. Esta solução tem prazo de validade de 1 mês.

SOLUÇÃO DE PERSULFATO DE POTÁSSIO 140 mM

Pesou-se 0,378g de persulfato de potássio, adicionando-se 10 mL de água destilada e deixando-se homogeneizar sob agitação magnética por 15 minutos, logo após, colocou-se em balão volumétrico de 10 mL, completando-se com água destilada, acondicionou-se em frasco âmbar, devidamente identificado e guardou-se sob refrigeração. Esta solução tem prazo de validade de 1 mês.

RADICAL $\text{ABTS}^{\cdot+}$; acrescentou-se 88 μL de solução de persulfato de potássio 140 mM e homogeneizou-se; deixou-se em repouso à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 16h, para a obtenção do cátion ABTS^+ (coloração verde escuro); manteve-se a solução em frasco âmbar, devidamente identificado, à temperatura ambiente. Esta solução tem prazo de validade de 20 dias, sob abrigo da luz e temperatura ambiente.

SOLUÇÃO DE $\text{ABTS}^{\cdot+}$ DILUÍDO EM ETANOL P.A 95% - para verificar a absorvância no espectrofotômetro

Diluiu-se a solução de $\text{ABTS}^{\cdot+}$ em etanol até a obtenção de solução com absorvância de 0,700 \pm 0,02 a 734 nm no espectrofotômetro. Manteve-se a solução em frasco âmbar, devidamente identificado. No espectrofotômetro, o radical estará estável quando sua absorvância for 0,700 \pm 0,02 a 734 nm.