

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**SILVANA LICODIEDOFF**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSTOS BIOATIVOS  
EM *Physalis peruviana* E DERIVADOS**

**CURITIBA**

**2012**

**SILVANA LICODIEDOFF**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSTOS BIOATIVOS  
EM *Physalis peruviana* E DERIVADOS**

Tese apresentada ao Programa Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Tecnologia de Alimentos,

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani

**CURITIBA**

**2012**

Licodiedoff, Silvana

Caracterização físico-química e compostos em *Physalis peruviana* e Derivados / Silvana Licodiedoff – Curitiba, 2012.

119 f. il.; tabs. grafs.

Orientadora: Rosemary Hoffmann Ribani

Tese (Doutorado) – Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Inclui Bibliografia

1. Compostos bioativos. 2. Frutas. 3. Alimentos. I.Ribani, Rosemary Hoffmann. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 664.80

**SILVANA LICODIEDOFF**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSTOS  
BIOATIVOS EM *Physalis peruviana* E DERIVADOS**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. EDNA REGINA AMANTE  
Centro de Ciências Agrárias, UFSC

  
Dr<sup>a</sup>. ROSSANA CATIE BUENO DE GODOY  
Embrapa Florestas – Colombo/PR

  
Prof. Dr. RENATO JOÃO SOSSELA DE FREITAS  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof. Dr. MARCELO KAMINSKI LENZI  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 27 de abril de 2012.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me acompanhar nesta longa jornada concedendo-me saúde, força e coragem para vencer obstáculos.

Ao Luciano. A. D. Koslowski, meu amor, pelo incentivo e apoio nos momentos difíceis, apesar da distância, ele soube compreender e sempre me estimular a continuar.

A minha família que mesmo longo, sempre foi fundamental em minha vida.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani, pela amizade, paciência, dedicação e compreensão na hora de orientar e analisar o trabalho.

A banca examinadora, Dr. Renato João Sossela de Freitas, Dr<sup>a</sup> Edna Regina Amante, Dr. Marcelo Kaminski Lenzi e a Dr<sup>a</sup> Rossana Catie Bueno de Godoy, por aceitarem compor a banca.

Ao Carlos Alberto da Silva Ledo pelas análises estatísticas, pelos valiosos ensinamentos, ajuda e amizade.

Ao prof. Dr. Marcelo Kaminski Lenzi, por confiar a mim sua sabedoria e incentivo na realização do último capítulo desta tese, além da grande amizade conquistada. A amiga Rossana Catie Bueno de Godoy, por contribuir com seus conhecimentos durante e ao final deste trabalho.

A Ana Mery de Oliveira Camlofski, que aceitou o desafio de me ajudar no desenvolvimento deste trabalho com toda sua calma e paciência e uma grande amizade que conquistamos e será eterna, e seu marido Jean Vinícius Camlofski que também compreendeu a condição e ambos me acolheram no final desta jornada, o meu muito obrigado.

As colegas e amigas Katielle Rosalva Voncik Cordova, Maria de Fátima Oiveira Negre e Vânia de Cássia da Fonseca Burgardt, que conquistei ao longo destes últimos anos, com as quais eu aprendi, compartilhei experiências, dúvidas e sempre estenderam a mão quando precisei.

As Cátia Nara Tobaldini Frizon e Aline Andrez Cruz Lima pelo desafio que vencemos juntas ao trabalhar com cromatografia e atividade antioxidante, no qual as cuias de chimarrão da Cristina Benincá foram indispensáveis para despertar aquelas incansáveis manhãs e tardes de trabalho.

As palavras alegria e força da baiana Dayse Aline F. Silva Bartolomeu que por onde passa enche de luz o caminho, a gaúcha Caroline Lopes Leiva, por sua garra em conquistar as coisas e sua disposição em ajudar-me nesta reta final.

Aos colegas que conquistei ao longo desta caminhada, os quais sempre compartilharam uma palavra amiga e seus conhecimentos, Maria Helene Giovanetti Canteri, Marli dos Santos da Silva, Maike Taís Maziero, Renata Padilha Bolzan, Fabiana Lemos Goularte Dutra, Flavia Vilas Boas Wiecheteck, Flávio Thihara Rodrigues, Fernanda Munhoz da Rocha Lemos, Fabíola T. Becker Lenzer, Mariana Buranelo Egea, Eriel Forville de Andrade, Fernanda Janaína O. G. da Costa, Vitor Renan da Silva, Fabiane Hamerski, Aline Francielle Fracasso, Humberto B. Júnior, Maurício Passos, André Souza Reis, Roberta de Souza Leone, Valesca Kotovicz, Marlene Bampi, Milene Oliveira Pereira Bicudo, Érika de Castro Vasques, pelos momentos agradáveis de amizade, que só quem vivencia saberá o que estou querendo dizer.

Aos técnicos Marcelo Zadorecki e Ivan Ricardo de Barros pela ajuda nos laboratórios, indispensáveis para concretização dos experimentos, assim como a troca de experiências e informações aliada a boa amizade.

À Dr<sup>a</sup> Sônia Cachoeira Stertz, Dr<sup>a</sup> Nina Waszczyński, Dr. Renato João Sossela de Freitas pelo afeto, simpatia, apoio e incentivo para com o meu trabalho, com dicas e sugestões.

Ao Prof. Ms. Paulo Fontoura, por seus conhecimentos e sua paciência em nos ensinar e sanar dúvidas no laboratório de Análise de Alimentos, nos momentos de aflição. A todos os demais professores que contribuíram de uma forma ou outra na evolução do meu conhecimento.

Ao Paulo Roberto Krainski, secretário do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, pela colaboração, pronto atendimento e amizade conquistada ao longo do curso.

A Universidade Federal do Paraná, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, pela acolhida e a CAPES, pelo auxílio financeiro. A todos os colegas de mestrado e doutorado que compartilharam suas informações e amizade.

A indústria ITALBRAZ que contribuiu fornecendo a matéria-prima para a realização dos experimentos.

## RESUMO GERAL

O consumo dos compostos bioativos tem despertado interesse devido à proteção contra doenças crônicas, sendo recomendada a ingestão de frutas e hortaliças que são fontes dos mesmos. A inserção do fruto *Physalis peruviana* constitui uma importante alternativa, para produtores de médio e grande porte por suas propriedades bioativas, por apresentar substâncias antioxidantes de interesse do consumidor que busca uma suplementação alimentar a partir da diversificação de uma alimentação à base de frutas. A revisão bibliográfica no **Capítulo 1**, de forma concisa aborda a origem, aspectos, propriedades desses compostos e sua importância para a saúde. Constataram-se algumas informações a respeito da composição para a variedade produzida fora do País; no entanto vale ressaltar que fatores como clima, colheita, entre outros, influenciam nas propriedades físico-químicas dos frutos. Para a *Physalis* produzida no Brasil, falta definir as características do fruto de acordo com as condições regionais. O **Capítulo 2** trata da caracterização físico-química do fruto consumido e comercializado principalmente sob a forma “in natura”, além dos compostos bioativos em dois estádios de maturação, início e final e, por fim, o amadurecimento em dois tamanhos, pequeno e grande. No **Capítulo 3**, apresenta-se a otimização da metodologia analítica de extração, hidrólise e separação cromatográfica por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinar os flavonóis em *Physalis* utilizando o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). As condições cromatográficas foram definidas utilizando o sistema da Agilent coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 com partícula de 3 µm e detector de arranjo de diodos. A condição de extração e hidrólise compreendeu a concentração de 8 mol L<sup>-1</sup> de HCl por 90 min de hidrólise. O **Capítulo 4**, trata da influência do filme polietileno de baixa densidade (PEBD) e período de congelamento na vida útil dos frutos inteiros de *Physalis peruviana* que foram acondicionados em embalagens de espessura de 10 e 20 µm, e mantidos nas temperaturas de -10 e -20 °C por 180 dias. As análises físico-químicas cor, textura, pH, °Brix, acidez total titulável, ratio, vitamina c, fenóis totais e flavonóis por CLAE permitiram analisar a influência das embalagens utilizadas. O **Capítulo 5** apresenta a análise de imagem como uma técnica para monitoramento da diluição do suco do fruto “in natura” de concentração variada. Os modelos com três parâmetros apresentaram o melhor ajuste o que atribui à técnica uma metodologia promissora para o monitoramento da diluição de sucos desse fruto.

**Palavras-chave:** Physalis. Compostos bioativos. Conservação. Suco.

## ABSTRACT

The consumption of bioactive compounds has attracted attention due to protection against chronic diseases, and recommended intake of fruits and vegetables that are sources of the same. The market insertion of *Physalis peruviana* fruit has attracted the interest of medium and large producers for their bioactive properties such as high levels of antioxidants and anticancer substances that have increased the interest of consumers in search of food supplementation from the diversification on a diet based in fruits. The literature review in **Chapter 1** concisely discusses the origin, aspects, properties of these compounds and their importance to health. There are some information about the composition for this variety produced outside the Brazilian country, however it is known that factors such as weather, harvest, among others, can influence the fruit physicochemical properties. For *Physalis* produced in Brazil, there is a gap about definition of fruit characterization related to regional environmental conditions. **Chapter 2** present physicochemical characteristics of the fruit consumed and marketed mainly in natural form and its bioactive compounds in two maturity stages, beginning and end of ripening and in two sizes, small and large. In **Chapter 3**, we present the optimization of the analytical methodology of extraction, hydrolysis and chromatographic separation by high performance liquid chromatography (HPLC) to determine flavonols in *Physalis* using the Central Composite Rotatable Design (CCRD). The chromatographic conditions were defined using the system from Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 with particle 3  $\mu$  and a diode array detector. The best condition of extraction and hydrolysis was concentration of 8 mol L<sup>-1</sup> HCl for 90 min hydrolysis. The **Chapter 4** deals with the influence of low density polyethylene film (LDPE) and freezing period in the life of the whole fruit of *Physalis peruviana* that were packaged with films of 10 and 20  $\mu$ m thickness, and maintained at temperatures of -10 and -20 °C for 180 days. The physicochemical analysis of color, texture, pH, Brix, titratable acidity, ratio, vitamin C, total phenols and flavonols by HPLC allowed us to analyze the influence of packaging used. **Chapter 5** presents the image analysis as a technique for monitoring the dilution of the juice from the fruit "in natura" applying at least eight different concentrations. Models with three parameters showed the best fit which gives the technique a promising methodology for monitoring the dilution of fruit juices.

**Key words:** Physalis. Bioactive compounds. Preservation. Juice.



## LISTA DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO 1</b>		
FIGURA 1-	ESTRUTURA DE UM FLAVONOIDE.....	20
<b>CAPÍTULO 2</b>		
FIGURA 1-	<i>Physalis peruviana</i> (a) FRUTO ENVOLTO POR UMA CÁLICE (b) O FRUTO COM AS SEMENTES (c).....	33
FIGURA 2-	ESTRUTURA BÁSICA DE FLAVONÓIS PRESENTES EM FRUTAS.....	35
FIGURA 3-	DISTRIBUIÇÃO MÉDIA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS E DPPH EM <i>Physalis</i> NO INÍCIO E NO FINAL DA MATURAÇÃO.....	43
<b>CAPITULO 3</b>		
FIGURA 1-	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA A DETERMINAÇÃO DA RUTINA EM <i>Physalis peruviana</i> -RS.....	65
<b>CAPITULO 4</b>		
FIGURA 1-	COORDENADA L* PARA O PARÂMETRO LUMINOSIDADE.....	90
FIGURA 2-	CROMATICIDADE a* PARA O PARÂMETRO COR VARIANDO DO AZUL AO VERDE.....	91
FIGURA 3-	CROMATICIDADE b* PARA O PARÂMETRO COR VARIANDO DO AMARELO AO VERMELHO.....	91
FIGURA 4-	CURVA TÍPICA FORÇA-DISTÂNCIA DE RUPTURA DO FRUTO DE <i>Physalis peruviana</i> .....	92
<b>CAPITULO 5</b>		
FIGURA 1-	GRADIENTE DE COR DO SUCO (M100 A M0) DE <i>Physalis peruviana</i> .....	107
FIGURA 2-	VALORES RESIDUAIS DO MODELO PREDITO PARA SUCO 0% - 100% DE <i>Physalis peruviana</i> .....	109
FIGURA 3-	PREDIÇÃO DO PERCENTUAL DE MASSA DE MODELOS ESTIMADOS.....	112

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO 1

TABELA 1-	ESTRUTURAS DOS FLAVONOIDES E SUAS RESPECTIVAS FONTES.....	21
-----------	---	----

### CAPITULO 2

TABELA 1-	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DA <i>Physalis peruviana</i> L. NO INÍCIO DA MATURAÇÃO (VERDE-AMARELO) E NO FINAL DA MATURAÇÃO (LARANJA).....	40
TABELA 2-	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO <i>Physalis peruviana</i> L. NO INÍCIO DA MATURAÇÃO (VERDE-AMARELO) E NO FINAL DA MATURAÇÃO (LARANJA).....	42
TABELA 3-	TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM <i>Physalis</i> NO INÍCIO DA MATURAÇÃO (VERDE-AMARELO) E NO FINAL DA MATURAÇÃO (LARANJA).....	43
TABELA 4-	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM <i>Physalis</i> NO INÍCIO E NO FINAL DA MATURAÇÃO.....	44
TABELA 5-	CORRELAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM <i>Physalis peruviana</i> .....	44
TABELA 6-	EQUAÇÕES DE CORRELAÇÃO DOS FATORES MATURAÇÃO E TAMANHO SOBRE OS TEORES DE RUTINA, MIRICETINA, VITAMINA C, ABTS E DPPH EM <i>Physalis peruviana</i> .....	45

### CAPITULO 3

TABELA 1-	FATORES E NÍVEIS DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA EXTRAÇÃO E HIDRÓLISE DE FLAVONÓIS EM <i>Physalis peruviana</i> -RS.....	60
TABELA 2-	CONCENTRAÇÃO DE SOLVENTE UTILIZADO NA EXTRAÇÃO DE FLAVONÓIS PARA <i>Physalis peruviana</i> -RS.....	63
TABELA 3-	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DO DCCR E TEORES DOS FLAVONOIDES ANALISADOS PARA <i>Physalis peruviana</i> -RS.....	64
TABELA 4-	ESTIMATIVAS DOS COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO MODELO POLINOMIAL PARA A RESPOSTA DO TEOR DE FLAVONOL ANALISADO PARA <i>Physalis peruviana</i> -RS.....	64
TABELA 5-	EQUAÇÃO QUE REPRESENTA OS TEORES RUTINA (Y) PRESENTES NA <i>Physalis peruviana</i> -RS EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MOLAR DE ÁCIDO CLORÍDRICO [HCl] NO TEMPO DE HIDRÓLISE.....	65
TABELA 6-	PROPRIEDADES DAS CURVAS ANALÍTICAS PARA OS PADRÕES DE FLAVONOIS.....	66
TABELA 7-	TEORES DE FLAVONÓIS EM <i>Physalis peruviana</i> .....	67

### CAPITULO 4

TABELA 1-	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO <i>Physalis peruviana</i> L. "IN NATURA".....	82
TABELA 2-	MÉDIA DOS VALORES DE pH, ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL	

	(ATT) E SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST) DE <i>Physalis peruviana</i> EMBALADA EM FILMES DE PEBD DE 10 E 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , ARMAZENADA A TEMPERATURA DE -10 E -20 $^{\circ}\text{C}$ DURANTE 180 DIAS.....	86
TABELA 3-	CORRELAÇÃO ENTRE AS ANÁLISES DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM <i>Physalis peruviana</i> .....	88
TABELA 4-	CORRELAÇÃO ENTRE AS EMBALAGENS E AS SUAS TEMPERATURAS DE ARMAZENAMENTO DO FRUTO DE <i>Physalis peruviana</i> .....	88
TABELA 5-	EQUAÇÕES DE REGRESSÃO DOS FATORES EMBALAGEM E TEMPERATURA SOBRE OS TEORES DE VITAMINA C, FENÓIS TOTAIS, RUTINA, MIRICETINA E KAEMPFEROL, AO FINAL DE 180 DIAS DE ARMAZENAMENTO DO FRUTO <i>Physalis peruviana</i> .....	89
<b>CAPITULO 5</b>		
TABELA 1-	DILUIÇÕES UTILIZADAS PARA A CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO (EM FRAÇÃO MASSICA DO SUCO) DE <i>Physalis peruviana</i> .....	104
TABELA 2-	PARÂMETROS DE COR (R, G, B) DO SUCO DE <i>Physalis peruviana</i> .....	107
TABELA 3-	RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DO SUCO DE <i>Physalis peruviana</i> .....	108
TABELA 4-	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA – 20% MASSA DE SUCO DE <i>Physalis peruviana</i> .....	108
TABELA 5-	RESUMO DOS MODELOS – FAIXA DE CONCENTRAÇÃO DE 0% - 100% EM MASSA DE SUCO DE <i>Physalis peruviana</i> .....	110

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
<b>CAPÍTULO 1 ASPECTOS GERAIS DO <i>Physalis</i> E COMPOSTOS FENÓLICOS</b> .....	15
<b>1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
1.1 ORIGEM.....	16
1.1.2 O gênero <i>Physalis</i> .....	17
1.1.2.1 <i>Physalis peruviana</i> .....	18
1.1.3 Compostos fenólicos.....	19
1.1.3.1 Importância biológica.....	22
1.1.3.2 Ocorrência.....	22
1.1.4 Determinação analítica para compostos fenólicos.....	23
1.1.4.1 Métodos empregados na determinação dos compostos bioativos.....	23
1.1.4.1.1 Flavonoides.....	23
1.1.4.1.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS.....	23
1.1.4.1.3 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH.....	24
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	25
<b>CAPÍTULO 2 FLAVONÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO FRUTO <i>Physalis peruviana</i> L. EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO</b> .....	30
<b>RESUMO</b> .....	31
<b>ABSTRACT</b> .....	32
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	33
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	36
2.1 MATÉRIA-PRIMA.....	36
2.1.1 Análises físico-químicas do fruto.....	36
2.1.2 Flavonois por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	37
2.1.3 Determinação da atividade antioxidante.....	38

2.1.4 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH.....	39
2.1.5 Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS.....	39
2.1.6 Análise estatística.....	39
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>
3.1 PARÂMETROS FÍSICOS DO FRUTO.....	40
3.1.1 Características físicas do fruto.....	40
3.1.2 Características físico-químicas do fruto.....	41
3.1.3 Compostos fenólicos no fruto <i>Physalis peruviana</i> .....	42
3.1.4 Atividade antioxidante.....	43
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>47</b>

<b>CAPÍTULO 3 OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM FRUTOS DE <i>Physalis peruviana</i>-RS.....</b>	<b>52</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>53</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>54</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>57</b>
2.1 AMOSTRAS.....	57
2.2 REAGENTES E PADRÕES PARA CROMATOGRAFIA.....	57
2.3 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	58
2.4 PREPARO DAS AMOSTRAS.....	59
2.4.1 Extração com solvente orgânico.....	59
2.4.2 Extração com hidrólise simultânea dos flavonóis.....	59
2.4.3 Planejamento experimental e análise de superfície de resposta.....	60
2.4.4 Validação do método.....	61
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>62</b>
3.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	62
3.2 CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO E HIDRÓLISE DOS FLAVONÓIS.....	63
3.3 OTIMIZAÇÃO POR DCCR DA EXTRAÇÃO/HIDRÓLISE DOS FLAVONÓIS.....	64
3.4 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ADOTADA.....	66

3.5 TEOR DE FLAVONOIS PELA METODOLOGIA VALIDADA PARA FRUTO <i>Physalis peruviana</i> - RS.....	66
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	68
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69

<b>CAPÍTULO 4 INFLUÊNCIA DO FILME DE POLIETILENO DE BAIXA DENSIDADE (PEBD) E CONGELAMENTO SOBRE A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO DE <i>Physalis peruviana</i></b> .....	73
<b>RESUMO</b> .....	74
<b>ABSTRACT</b> .....	75
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	76
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	78
2.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA.....	78
2.2 CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO SOB CONGELAMENTO.....	78
2.3 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO FRUTO.....	78
2.4 FLAVONOIS POR CROMATOGRAFIA A LÍQUIDO DE ALTA EFICIÊNCIA.....	79
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	81
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	82
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO FRUTO “IN NATURA”.....	82
3.2 EFEITO DA EMBALAGEM E TEMPO DE ESTOCAGEM.....	85
3.3 EFEITO DA TEMPERATURA E DA EMBALAGEM NA CONSERVAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM <i>Physalis peruviana</i> .....	88
3.4 EFEITO DA TEMPERATURA E EMBALAGEM NA CONSERVAÇÃO DA CROMA DOS FRUTOS DE <i>Physalis peruviana</i> .....	90
3.5 TEXTURA.....	92
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	93
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	94

<b>CAPÍTULO 5 ANÁLISE DE IMAGEM PARA MONITORAMENTO DA DILUIÇÃO DO SUCO DE <i>Physalis peruviana</i> “IN NATURA”</b> .....	99
<b>RESUMO</b> .....	100
<b>ABSTRACT</b> .....	101
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	102

<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	104
2.1 MATERIAL.....	104
2.2 MÉTODOS.....	104
2.2.1 Análise de imagem.....	104
2.2.2 Análises físico-químicas.....	105
2.2.3 Análise dos parâmetros do suco concentrado e suas diluições.....	106
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	107
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	107
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	113
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	114
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	118

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Physalis* pertence à família Solanaceae, localizada em regiões temperadas, quentes e subtropicais. As espécies comumente encontradas no Brasil são a *Physalis peruviana* e *angulata* sendo o Rio Grande do Sul o principal produtor desses frutos “in natura”, que estão sendo incorporadas no cultivo de pequenas frutas, que podem a médio e longo prazo constituírem espécies de importância comercial, pouco conhecidas no mercado interno e externo (PAGOT; HOFFMANN, 2003).

O fruto pequeno e redondo apresenta polpa que varia de amarela até um escuro alaranjado semelhante em tamanho, forma e estrutura ao tomate, envolto parcial ou completamente por um involúcro parecido com um balão conhecido por cálice contendo o fruto em seu interior e centenas de pequenas sementes (ALVARADO; BERDUGO; FISCHER, 2004). A comercialização ocorre normalmente com o fruto inteiro com ou sem cálice em bandejas envoltas com filme plástico pesando aproximadamente 500 g. De modo geral, é utilizado inteiro em doces, tortas, bolos e outros produtos no qual o fruto apresenta-se como parte da decoração.

Esses frutos apresentam compostos bioativos que contribuem para a captura de radicais livres atuando como antioxidantes (FONTANA et al., 2000). A bioatividade da *Physalis* pode estar correlacionada à presença de constituintes químicos que incluem flavonoides simples ou glicosilados, carotenoides, ácido ascórbico e alcaloides. São compostos que têm despertado interesse por seus efeitos biológicos benéficos à saúde por sua ação antioxidante, atuando como mecanismo de defesa contra os radicais livres.

Nesse contexto, considerando o potencial bioativo do *Physalis peruviana* para desenvolvimento de novos produtos de valor agregado, o presente trabalho teve como objetivo quantificar os flavonóis e avaliar a atividade antioxidante do fruto em dois estádios de maturação. Otimizar e validar a metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência. Observar a influência do filme de baixa densidade e o efeito do congelamento sobre as características físicas e químicas do



fruto inteiro. Definir o percentual de diluição do suco do fruto por monitoramento e análise de imagem.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho visa caracterizar os frutos *Physalis peruviana* quanto às suas propriedades físico-químicas e compostos bioativos por meio da metodologia desenvolvida para o emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), verificando a estabilidade durante armazenagem sob congelamento do fruto e monitorando a diferença de cor desenvolvida para diferentes diluições do suco do fruto.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar as propriedades físico-químicas do fruto no início e no final da maturação para os tamanhos pequeno e grande;
- Estabelecer a melhor condição cromatográfica para separação dos flavonóis;
- Otimizar e validar as condições de extração e hidrólise a partir do fruto *Physalis peruviana*;
- Definir o conteúdo de compostos bioativos e caracterizar os frutos “in natura”;
- Verificar a influência do filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) de 10 e 20 µm na temperatura de -10 e - 20 °C no armazenamento do fruto por 180 dias, monitorando a composição físico-química;
- Analisar o efeito do congelamento sobre a conservação dos compostos bioativos no fruto em função da tecnologia adotada;

- Analisar as propriedades do fruto “in natura” e dos frutos obtidos por congelamento;
- Monitorar a diluição do suco de *Physalis peruviana* “in natura” utilizando análise de imagem;
- Gerar modelo que prevê a diluição do suco.

## CAPÍTULO 1

# **ASPECTOS GERAIS DO *Physalis* E COMPOSTOS FENÓLICOS**

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O cultivo do *Physalis* tem se propagado visto o baixo custo de implantação, o que torna sua produção acessível também aos pequenos produtores devido à boa adaptação (POLTRONIERI, 2003).

O consumo desse fruto ocorre principalmente “in natura”, com poucas informações a respeito de sua composição química. A caracterização do fruto nativo é de grande importância tanto para o produtor como para o consumidor, sendo fonte de vitaminas, açúcares, antioxidantes, ácidos, aromas e sabores que aguardam sua identificação para posterior exploração pela indústria com o intuito de elaborar produtos novos e competitivos no mercado (CHAVES; SCHUCH; ERIG, 2005).

### 1.1 ORIGEM

O fruto é originário dos Andes, porém é na América do Sul que se encontra o maior produtor, a Colômbia, comercializado pelo nome de *uchuva* (*cape gooseberry*) (FRANCO et al., 2007), no Equador por *uvilla* (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008), no Peru é *cereza del Peru*, no Japão como *Hosuki*, os Chineses o denominam *Kuzhi* (DAMU et al., 2007). No Brasil, encontra-se no Norte e Nordeste, comum nos quintais, é conhecido por nomes como: camapu, camambu, camaru, joá-de-capote, joá-poca, balão-rajado, saco-de-bode, bucho-de-rã e mata-fome. Enquanto que em outras regiões segue as seguintes denominações: capulí, aguaymanto, awaymanto, goldenberry, entre outros (LORENZI; MATOS, 2002; CARRASCO; ZELADA, 2008; FROTA, 2009).

Na Colômbia, o cultivo de *Physalis* iniciou-se em 1985, com a comercialização do fruto “in natura” e processada (CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL, 2000a; RUFATO et al., 2008). No Brasil, a inserção do fruto *Physalis* teve início em 1999 na Estação Experimental de Santa Luzia-SP, visando o melhoramento genético (RUFATO et al., 2008).

A origem do nome *Physalis* provém do grego, onde “*Physa*” significa bolha ou bexiga, referindo-se ao cálice que sustenta seus frutos comestíveis (contendo

entre 150 a 300 sementes) constituídos de vitamina A, B e C além de ferro e fósforo (TOMASSINI et al., 2000; AGUILAR et al., 2006). O suco do fruto tem pH entre 3,6 e 4,1 contribuindo para a estabilidade do ácido ascórbico presente no fruto durante os tratamentos térmicos (RUFATO et al., 2008).

### 1.1.2 O gênero *Physalis*

O gênero *Physalis* L. pertence à família Solanaceae e tem hábito herbáceo a arbustivo; androceu pentâmero com anteras com aberturas longitudinais; ovário com disco basal e fruto baga, envolvido pelo cálice acrescente e inflado. O *Physalis* possui cerca de aproximadamente cento e vinte espécies com caracteres herbáceos, que estão distribuídos nas zonas temperadas do globo terrestre, desde o Sul da América do Norte até a América do Sul, com centros dessa diversidade taxonômica no México, Estados Unidos e América Central (MAGALHÃES, 2005; NURIT SILVA; AGRA, 2005), tendo algumas espécies cultivadas por sua importância na alimentação humana.

Na diversidade desse gênero encontram-se uma extensa presença de constituintes químicos, como os flavonoides simples ou glicosilados (kaempferol, quercitina, rutina, com uma, duas ou três unidades de açúcares), ácidos graxos de cadeia linear (C6 a C24), hidroxilados, epoxilados; ácido ascórbico, carotenoides, alcaloides e terpenos (como os vitaesteroides). Esses vitaesteroides compreendem substâncias químicas que reproduzem o esqueleto do ergostano intacto ou modificado, com função lactônica (C-26) que fornece uma diversidade de estruturas que se classificam em vitanolidos, vitanolídeos “modificados”, vitafisalinas, acnistinas, ixocarpolactonas, perulactonas e fisalinas. Dentre os vários gêneros da família Solanaceae, o *Physalis* apresenta a maior produção de vitanolídio e fisalinas (TOMASSINI et al., 2000).

De acordo com a Fundação Oswaldo Cruz, do Ceará, a substância “Physalina” atua no sistema imunológico humano evitando a rejeição a órgãos transplantados, além de apresentar propriedades medicinais já comprovadas como a redução do colesterol LDL (lipoproteínas de baixa densidade), diminuição da glicemia e ação diurética. Nas citações populares, mas que ainda necessitam de

comprovação científica acredita-se que essa planta apresenta ação no combate ao reumatismo, doenças de pele, rins, fígado, bexiga, malária e hepatite, além de purificar o sangue e fortalecer os nervos ópticos e reduzir a incidência de cataratas (RUFATO et al., 2008). São reportados na literatura outros benefícios, apresentando atividade antipirética, antitumoral, antiinflamatória, antiparasitária, antivirótica, antimicrobiana, imunomoduladora; pode ainda ser utilizada para asma, problemas urinários, reumatismo, calmante, depurativo e contra dores de ouvido (TOMASSINI et al., 1997; TOMASSINI et al., 2000; MAGALHÃES, 2005), conferindo a essa planta um grande espectro de propriedades.

#### 1.1.2.1 *Physalis peruviana*

O principal centro de produção de *Physalis peruviana* “uchuva” (nome de origem indígena que significa fruto redondo) é a Colômbia, com produtividade de aproximadamente 20 toneladas por hectare (CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL, 2000; RUFATO et al., 2008). Porém, a mesma já foi introduzida no Sul da África, Estados Unidos, Nova Zelândia, onde se cultiva comercialmente o fruto. Por sua vasta distribuição em climas distintos, observou-se uma grande variabilidade morfológica nas plantas, que expressa uma clara e distinta variabilidade genética. Essas características, por sua vez, apresentam uma grande heterogeneidade na mesma cultivar e nos diferentes tempos de colheita (MAZORRA et al., 2006; LANCHERO et al., 2007).

A *Physalis peruviana* é a espécie de *Physalis* mais conhecida, cujo fruto é composto de uma baga carnosa contendo entre 150 a 300 sementes, redonda, coloração amarelo-laranja, diâmetro entre 1,2 e 2,5 cm e peso de 4 a 10 g protegidas por cinco pétalas no formato de um cálice que age como barreira contra os insetos, pássaros e condições climáticas severas (CORPORACION COLOMBIANA INTERNACIONAL, 2000 b; AVILA et al., 2006).

A característica dessa espécie é produzir frutos com teor de sólidos solúveis totais que variam entre 11 a 15 °Brix, e uma expressiva fonte de vitamina A com aproximadamente 236 mg. 100 g<sup>-1</sup> de β-caroteno do fruto fresco; 32,2 mg. 100 g<sup>-1</sup> de

ácido ascórbico e 2,01 mg. 100 g<sup>-1</sup> de ácido cítrico (AGUILAR et al., 2006; GUTIÉRREZ; HOYOS; PÁEZ, 2007).

Estudos realizados por Carrasco e Zelada (2008) encontraram para a mesma espécie (aguayamanto) umidade 79,8 g. 100 g<sup>-1</sup>, cinzas 1,0 g. 100 g<sup>-1</sup>, proteína 1,9 g. 100 g<sup>-1</sup>, fibra 3,6 g. 100 g<sup>-1</sup>, gordura 0,0 g. 100 g<sup>-1</sup>, carboidratos 17,3 g. 100 g<sup>-1</sup>, vitamina C 43,3 mg. 100 g<sup>-1</sup> e energia total igual a 76,8 kcal. 100 g<sup>-1</sup> de amostra. Os minerais, presentes no fruto foram: fósforo 37,9 mg. 100 g<sup>-1</sup>, cálcio 10,5 mg. 100 g<sup>-1</sup>, ferro 1,24 mg. 100 g<sup>-1</sup>, zinco 0,4 mg. 100 g<sup>-1</sup> e potássio 292,65 mg. 100 g<sup>-1</sup>.

Essas características conferem à espécie propriedades medicinais utilizadas popularmente para purificar o sangue, fortificar o nervo óptico, aliviar infecções da garganta, limpar as cataratas (NOVOA et al., 2006), anticancerígena, antimicobacteriana, antipirética, diurética, imunomoduladora, bem como no tratamento de enfermidades, como a hepatite, asma, malária, dermatite e artrite (FRANCO et al., 2007).

A *Physalis peruviana* tem seu maior consumo sob a forma “in natura” ou refrigerada com ou sem cálice em embalagens cobertas com filme de polietileno contendo em torno de 500 gramas do fruto. A indústria atualmente tem maior demanda para o fruto inteiro, faltando informações de estudos do fruto em suas diferentes operações de pós-colheita, ou congelamento que poderiam manter a qualidade e prolongar sua vida útil (LANCHERO et al., 2007), uma vez que a *Physalis peruviana* se classifica como um fruto climatérico (GALVIS; FISCHER; GORDILLO, 2005; LANCHERO et al., 2007).

### 1.1.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos constituem uma importante classe, sendo os flavonoides o maior grupo de pigmentos fenólicos, os quais estão presentes em frutas, vegetais e grãos e são os principais responsáveis pelos pigmentos de cor azul e vermelha, que compreendem as antocianinas enquanto que os tons de amarelo compreendem as antoxantinas (BOBBIO, 1992; ARAÚJO, 2004).



Segundo Heim; Tagliaferro e Bobilya (2002), mais de 4000 estruturas de flavonoides já foram identificadas, e ao serem consumidos apresentam efeitos benéficos para o organismo (JÁUREGUI et al., 2007).

A estrutura química dos flavonoides caracteriza-se como difenilpropanos ( $C_6-C_3-C_6$ ) com 15 átomos de carbono arranjados em dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirano (C) (Figura 1), divididos em classes de acordo com suas propriedades químicas (ARAÚJO, 2004).

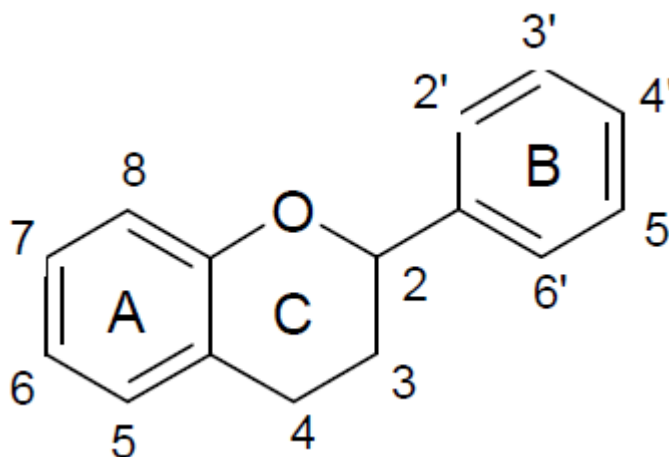
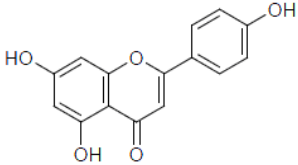
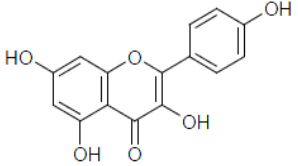
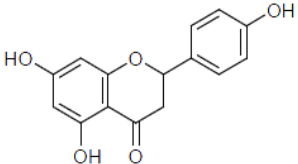
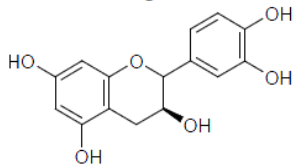
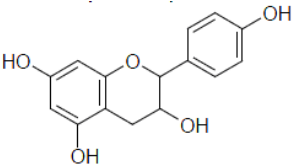
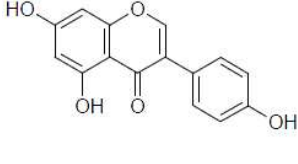


FIGURA 1 – ESTRUTURA DE UM FLAVONOIDE  
FONTE: VALDAMERI (2008).

A partir dessa estrutura, várias combinações podem ser formadas, principalmente com a presença de hidroxilas e metoxilas. Entre os flavonoides, incluem-se as principais classificações: flavonas, flavonois, flavanonas, flavanóis, antocianidinas e isoflavonas, as quais são apresentadas na Tabela 1 (MOON; WANG; MORRIS, 2006).

As diferenças entre cada um desses grupos estão relacionadas à variação no número e no arranjo de hidroxilas, bem como sua natureza. Por exemplo, a cor vibrante dos flavonoides (flavonas e antocianinas) age como atrativo para os insetos polinizadores, assim como protetores de células vegetais por sequestrar espécies reativas de oxigênio produzidas pela radiação UV indispensável à fotossíntese (PIETTA, 2000).

TABELA 1 - ESTRUTURAS DOS FLAVONOIDES E SUAS RESPECTIVAS FONTES

CLASSE	ESTRUTURA	EXEMPLOS	FONTE
FLAVONA	 Apigenina	Apigenina Luteolina Acacetina Baicaleína Crisina Tangeritina	Salsa, tomilho, aipo, pimentão vermelho, mel, própolis
FLAVONOL	 Kaempferol	Kaempferol Galangina Morina Miricetina Quercetina	Cebola, brócolis, maçã, cereja, framboesa, chá, vinho tinto
FLAVANONE	 Naringenina	Naringenina Eriodictiol Hesperetina Homoeridictiol	Citrus
FLAVANOL	 Epicatequina	Epicatequina Catequina Proantocianidinas	Cacau, chocolate, chá verde, vinho tinto e algumas ervas
ANTOCIANIDINA	 Cianidina	Cianidina	Cereja, uva, framboesa
ISOFLAVONA	 Ginesteína	Ginesteína Daidzeína	Alfafa, soja e alguns legumes

FONTE: MOON; WANG e MORRIS (2006); VALDAMERI (2008).

As hidroxilas são encontradas preferencialmente nos carbonos, nas posições 3, 5 ou 7 e podem apresentar açúcar na molécula. Esses grupos hidroxila e açúcares aumentam as propriedades hidrofílicas, enquanto a ligação com ésteres metílicos aumenta as características hidrofóbicas (ARAÚJO, 2004).

Os compostos fenólicos são sintetizados por rotas distintas, constituindo-os como um grupo heterogêneo sob o ponto de vista metabólico. Entre essas rotas, a síntese pode ocorrer via ácido malônico ou por meio do ácido chiquímico, principal responsável pela maioria dos fenóis oriundos de vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004).

### 1.1.3.1 Importância biológica

As atividades de importância biológica dos flavonoides são muitas, entre as mencionadas anteriormente, citam-se ainda: antioxidante, antiviral, antialérgica, anticarcinogênica, anti-inflamatória, vasoprotetora e anti-hepatotóxica (DUTHIE; CROZIER, 2000; VALDAMERI, 2008). Como exemplo, o própolis da abelha, presente na cera, contém um grande número de flavonoides.

As preparações com rutina e diosmina são comumente usadas para aumento do tônus vascular. As antocianinas de *Vaccinium* spp. e *Ribes* spp. (uva do monte e groselha negra, respectivamente) são usadas para aumentar a visão e a resistência capilar. E essa atividade dos flavonoides está relacionada à sua estrutura, ou seja, depende do número de substituintes hidroxil nessa estrutura (JOHANN, 2003).

### 1.1.3.2 Ocorrência

Os flavonoides são importantes compostos da dieta humana, consumidos diariamente, cujo valor estimado varia entre 26 mg e 1 g/dia, de acordo com o consumo de fontes como vinho tinto, chá preto, cerveja, maçã, uva, morango, acerola, caju, figo, goiaba, laranja, pitanga, cebola, couve, vagem, brócolis, grãos, nozes, sementes e especiarias. A quercetina, o mais abundante flavonoide presente na dieta humana, representa aproximadamente 95% do total dos flavonoides ingeridos. Entre os demais flavonoides estudados em frutos, pode-se citar ainda o kaempferol, miricetina, apigenina, luteolina, entre outros (BEHLING et al., 2004; HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

#### 1.1.4 Determinação analítica para compostos fenólicos

##### 1.1.4.1 Métodos empregados na determinação dos compostos bioativos

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica instrumental de grande precisão utilizada na separação, identificação e determinação dos componentes bioativos incluindo frutas e alimentos (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

###### 1.1.4.1.1 Flavonoides

A determinação quantitativa de flavonoides glicosídicos individuais é dificultada porque a maioria desses padrões comerciais não está disponível para aquisição. A hidrólise dos glicosídeos para liberar as agliconas oferece um método mais prático para determinação dos flavonoides. Estabelecidas as condições ótimas de extração e hidrólise dos flavonoides do fruto, esses são quantificados por padronização externa através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com *diode array detector* (DAD) segundo trabalho referido por Hoffmann-Ribani e Rodriguez-Amaya (2008).

###### 1.1.4.1.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS

Segundo a metodologia descrita por Re et al. (1999), a atividade antioxidante é determinada utilizando o radical ABTS (2,2 azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico) a uma concentração 7 mmol. L<sup>-1</sup> reagindo com persulfato de potássio (2,45 mmol. L<sup>-1</sup>, concentração final). Uma vez formado o radical ABTS, dilui-se com etanol até obter uma absorbância compreendida entre 0,70 e 754 nm ( $\pm 1$ ). A capacidade antioxidante da amostra é calculada em  $\mu\text{ mol g}^{-1}$

de TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox, 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico) (NENADIS et al., 2004).

#### 1.1.4.1.3 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

O método utilizado para verificar a atividade antioxidante consiste em capturar o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por ação de um antioxidante, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm e mudança na coloração de púrpura para amarela (OLIVEIRA et al., 2009). Para a avaliação da atividade antioxidante, os extratos etanólicos do fruto deverão reagir com o radical estável (padrão) DPPH em uma solução de etanol. Em seguida, após repouso de 20 min, será medida a absorbância. A capacidade de sequestrar o radical DPPH será expressa em percentual, calculada em relação ao controle (sem antioxidante).

## REFERÊNCIAS

AGUILAR, R. M.; LOMELÍ, A. P.; GAYTÁN, E. L.; HERNÁNDEZ, J. J. A.; AGUIRRE, D. P. Agrofenología de *Physalis peruviana* em invernadero y fertirriego. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v. 12, p. 57-63, 2006.

ALVARADO, P.A.; BERDUGO, C.A.; FISCHER, G. Efecto de um tratamiento a 1,5 °C y dos humedades relativas sobre las características físico-químicas de fruto de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento. **Agronomía Colombiana**, v. 22, p. 147-159, 2004

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg, 2000.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 3º ed. rev – Viçosa: UFV, 2004. p. 478.

AVILA, J. A.; MORENO, P.; FISCHER, G.; MIRANDA, D. Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18°C. **Acta Agronomica** (Colombia), v. 55, p. 29-38, 2006.

BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas **Alimentos e Nutrição**, v. 15, p. 285-292, 2004.

BOBBIO, P. A. **Química do Processamento de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 1992.

CARRASCO, R. R.; ZELADA, C. R. E. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. **Revista Sociedad Química Perú**, v. 74, p. 108-124, 2008.

CHAVES, A. C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 1281-1287, 2005.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2006.

CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL. n. 23. ISSN 0124-1338: Analisis de los componentes del precio internacional de la uchuva. Boletín Precios Internacionales. Bogotá, 2000 a.

CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL. n. 13. ISSN 0124-1338: Inteligencia de Mercados. Perfil de Producto. UCHUVA. Bogotá, 2000 b.

DAMU, A. G.; KUO, P.; SU, C.; KUO, T.; CHEN, T.; BASTOW, K. F.; LEE, K.; WU, T. Isolation, structures, and structure-cytotoxic activity relationships of withanolides and physalins from *Physalis angulata*. **Journal of Natural Products**, v. 3, p. 1-6, 2007.

DUTHIE, G.; CROZIER, A. Plant-derived phenolic antioxidants. **Current Opinions in Lipidology**, v. 11, p. 43-47, 2000.

FONTANA, J. D.; MENDES, S. V.; VERSIKE, D. S.; PERACETTA, L. F.; PASSOS, M. Carotenóides: Cores atraentes e ação biológica. **Revista biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 2, p. 40 -45, 2000.

FRANCO, L. A.; MATIZ, G. E.; CALLE, J.; PINZÓN, R.; OSPINA, L. F. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. **Revista Biomédica**, v. 27, p. 110- 115, 2007.

FROTA, M. C. Novidade no pomar. **Revista Globo Rural**, Ed. 281, 2009.

GALVIS, J.; FISCHER, G.; GORDILLO, O. Cosecha y poscosecha de la uchuva. En: FISCHER, G.; MIRANDA, D.; PIEDRAHITA, W., ROMERO, J. Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en Colombia. **Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia**, p. 221, 2005.

GUTIÉRREZ, T. M.; HOYOS, O. L.; PÁEZ, M. I. Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). **Facultad de Ciencias Agropecuarias**, v. 5, 2007.

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

HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Química Nova**, v. 3, p. 1378-1384, 2008.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.19, p. 97-108, 2008.

JÁUREGUI, A. M. M.; RAMOS-ESCUADERO, D. F.; ALVARADO-ORTIZ, C. U.; CASTAÑEDA, B. C. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. **Revista Sociedad Química del Perú**, v. 73, p. 142-149, 2007.

JOHANN, S. **Atividade antimicrobiana de flavonoides polimetoxilados isolados de frutos cítricos**. 97 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Florianópolis, 2003.

LANCHERO, O.; VELANDIA, G.; FISCHER, G.; VARELA, N. C.; GARCIA, H. Comportamiento de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) em poscosecha bajo condiciones de atmósfera modificada activa. **Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 1, p. 61-68, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Ed. 1. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

MAGALHÃES, H. I. F. **Atividade antitumoral (in vitro e in vivo) das fisalinas isoladas de *Physalis angulata* Lin.** 85 f. Dissertação de Mestrado em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, 2005.

MAZORRA, M. F.; QUINTANA, A. P.; MIRANDA, D.; FISCHER, G.; VALENCIA, M. C. de. Aspectos anatómicos de la formación y crecimiento del fruto de uchuva *Physalis peruviana* (Solanaceae). **Acta Biológica Colombiana**, v.11, p. 69-81, 2006.

MOON, Y. J.; WANG, X.; MORRIS, M. E. Dietary flavonoides: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. **Toxicology in vitro**, v. 20, p. 187-210, 2006.



NENADIS, N.; WANG, L. F.; TSIMIDOU, M.; ZHANG, H. Y. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4669-4674, 2004.

NOVOA, R. H.; BOJOCÁ, M.; GALVIS, J. A.; FISCHER, G. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) almacenada a 12 °C. **Agronomía Colombiana**, v. 24, p. 77-86, 2006.

NURIT SILVA, K., AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, p. 344 – 351, 2005.

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

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria. **Anais**. Vacaria. Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 9-14.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

POLTRONIERI, E. Alternativas para o mercado interno de pequenas frutas. In: Seminário Brasileiro sobre pequenas frutas, 1., 2003, Vacaria, RS. **Anais...** Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003, p. 37-40. (Documentos, 37).

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

RUFATO, L.; ROSSI, A.; SCHLEMPER, C.; LIMA, C. S. M.; KRETZSCHMAR, A. A. **Aspectos técnicos da cultura da *Physalis***. Lages: CAV/UEDESC, 2008. v. 1. 100 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3<sup>o</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TOMASSINI, T. C. B.; BARBI, N. S.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre vitaesteróides. **Química Nova**, v. 23, p. 47-57, 2000.

TOMASSINI, T. C. B.; SILVA, M. T. G.; SANCHES, E. G.; RIBEIRO, I. M. Investigação dos constituintes químicos presentes em *Physalis angulata* L. **Bolletino Chimico Farmacêutico**, v. 14, p. 136-154, 1997.

VALDAMERI, G. **Efeitos da flavona sobre o metabolismo mitocondrial**. 75 f., Dissertação (Mestrado em Ciência-Bioquímica) – Setor Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

## CAPÍTULO 2

### **FLAVONÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO FRUTO DE *Physalis peruviana* L. EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

## RESUMO

As características do *Physalis peruviana* (joá do capote) consumido sob a forma “in natura” são pouco conhecidas, o que dificulta a industrialização. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar os compostos bioativos do fruto em dois estádios de maturação, início e final do amadurecimento, com a coloração diferenciando-se entre verde-amarelo e laranja, para dois tamanhos de frutos. A relação entre os açúcares e os ácidos (ratio) teve um incremento do início para o final da maturação. A quercetina não foi encontrada nas amostras analisadas, no entanto, a rutina predominou na amostra laranja nos tamanhos pequeno e grande, seguida da verde-amarela (início da maturação) no tamanho pequeno, com valores que variaram entre 6,90 - 6,76 e 5,89 - 4,46  $\mu\text{g. g}^{-1}$ , respectivamente. O teor de miricetina foi de 1,08 a 1,17 e 1,11 a 1,31  $\mu\text{g. g}^{-1}$  para o fruto laranja e verde-amarelo, respectivamente, indicando que o *Physalis* também é fonte de compostos fenólicos. A atividade antioxidante sofreu influência dos distintos estádios de amadurecimento do fruto e está correlacionada com o maior conteúdo dos flavonóis rutina e miricetina. Assim, conclui-se que tanto o grau de maturação quanto o tamanho têm influência nas propriedades químicas do fruto.

**Palavras-chave:** Compostos fenólicos. Joá do capote. Rutina. Miricetina.

## ABSTRACT

The characteristics of *Physalis peruviana* (Joá do capote), consumed in fresh form, are few known, hindering its industrialization. This study aimed to evaluate the bioactive compounds of the fruit at two stages of maturity. The relationship between sugars and acids (ratio) had an increment from the beginning to the end of maturity. Quercetin was not found in the samples. Nevertheless, rutin was predominant in the orange fruit in small and large sizes, followed by yellow-green in small size, with values ranging from 6.90 to 6.76  $\mu\text{g. g}^{-1}$  and 5.89 to 4.46  $\mu\text{g. g}^{-1}$ , respectively, while the content of myricetin was 1.08 to 1.17  $\mu\text{g. g}^{-1}$  and 1.11 to 1.30  $\mu\text{g. g}^{-1}$  for yellow and orange fruit, respectively. These results characterize *Physalis peruviana* L. fruits as a source of phenolic compounds. The antioxidant activity was influenced by the different stages of fruit ripening which is correlated to a higher content of rutin and myricetin. Thus it was concluded that not only the degree of maturity but also the size of the fruit has an effect on these properties.

**Key words:** Phenolic compounds. Joá do capote. Rutin. Myricetin.

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* pertence à família Solanaceae e apresenta aproximadamente cento e vinte espécies, distribuídas nas zonas temperadas do globo terrestre, desde o Sul da América do Norte até a América do Sul, com centros dessa diversidade taxonômica no México, Estados Unidos e América Central (NURIT SILVA; AGRA, 2005). A espécie comumente encontrada no Brasil é a *Physalis peruviana* L., sendo o Rio Grande do Sul o principal produtor do fruto “in natura” (RUFATO et al., 2008). Como características próprias dessa espécie, o fruto é formado por uma baga pequena, redonda e exótica, com polpa de cor amarela até um alaranjado escuro, semelhante em forma e estrutura ao tomate. Esses frutos podem apresentar entre 150 a 300 sementes, 12,5 a 25,0 mm de diâmetro e 4 a 10 g por unidade, envoltos parcial ou completamente por um involúcro foliar (Figura 1), em forma de um balão conhecido por cálice (CORPORACION COLOMBIANA INTERNACIONAL, 2000; NURIT SILVA; AGRA, 2005; AVILA et al., 2006).

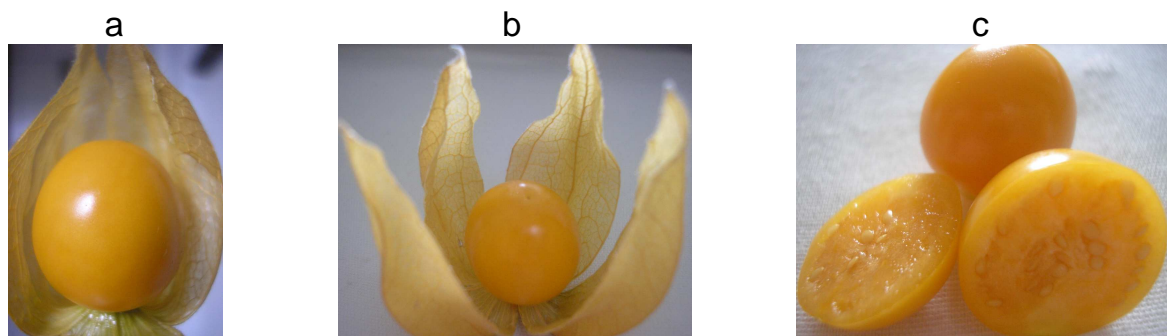


FIGURA 1 - *Physalis peruviana* (a) FRUTO ENVOLTO POR UMA CÁLICE (b) FRUTO COM AS SEMENTES (c)

FONTE: A autora (2012).

Sua composição química caracteriza-se por apresentar baixa acidez e uma expressiva fonte de vitaminas A e C, com teor de sólidos solúveis que varia entre 11 a 15 °Brix com o avanço da maturação (AGUILAR et al., 2006; LANCHERO et al., 2007; CARRASCO; ZELADA, 2008).

A *Physalis peruviana* é uma planta amplamente utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças como a malária, asma, hepatite, dermatite e reumatismo (TOMASSINI et al., 2000; FRANCO et al., 2007), além de possuir

propriedades medicinais já comprovadas como redução do mau colesterol, diminuição da glicemia e ação diurética (RUFATO et al., 2008).

Na diversidade desse gênero, encontram-se um expressivo conteúdo de constituintes químicos, como os flavonoides simples ou glicosilados (kaempferol, quercitina, rutina), ácidos graxos de cadeia linear (C<sub>6</sub> a C<sub>4</sub>), ácido ascórbico, carotenoides, alcaloides e terpenos (como os vitaesteroides) (ANGELO, 2007; HUBER, RODRIGUEZ-AMAYA; RODRIGUES, 2007).

Os flavonoides, ácidos hidroxibenzóico, ácidos hidroxicinâmicos e estilbenos são compostos fenólicos que têm despertado maior interesse por seus efeitos biológicos benéficos à saúde por sua ação antioxidante (MONAGAS et al., 2005; BARREIROS; DAVID, 2006; CHIRINOS et al., 2010). Os flavonoides são importantes polifenóis que ocorrem naturalmente em alimentos consumidos diariamente e comuns em dietas de todo o mundo. São metabólitos secundários de plantas e podem ser divididos em seis principais classes: flavonas, flavanonas, flavonois, isoflavonas, antocianinas e flavanóis (MANACH et al., 2004; YAO et al., 2004). Entre esses, os três primeiros tipos citados são comumente encontrados em frutas cítricas (CALABRO et al., 2004; DI MAJO et al., 2005). A diferença entre cada um destes grupos é a presença do grupo hidroxílico (na posição 3) e do grupo carbonílico (na posição 4) no anel C (Figura 2).

Os flavonois geralmente ocorrem em alimentos como O-glicosídeos, onde um ou mais dos grupos hidroxila do flavonoide se ligam com mono, di ou polissacarídeos, sendo a glicose o açúcar mais comumente encontrado, seguida da galactose, ramnose, xilose e arabinose (ROBARDS; ANTOLIVIC, 1997).

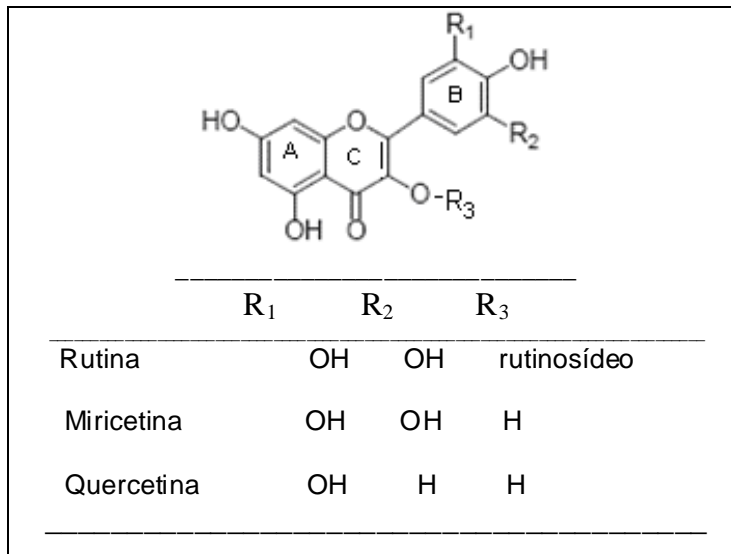


FIGURA 2 - ESTRUTURA BÁSICA DE FLAVONOIS PRESENTES EM FRUTAS  
 FONTE: HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA; RODRIGUES (2007).

O termo flavonoide é citado de forma a abranger o grupo dos compostos fenólicos presente em plantas, que contribui com a qualidade sensorial dos frutos e inclui também a adstringência e amargor (VENDRAMINI; TRUGO, 2004; VASCO, 2008).

O Brasil apresenta uma grande variedade de frutos nativos e não nativos que necessitam ser estudados para caracterizar e quantificar suas potenciais fontes de compostos, dentre eles os bioativos. No presente trabalho, as propriedades da *Physalis peruviana* foram estudadas no início e no final da maturação, em frutos pequenos e grandes, a fim de definir o conteúdo desses compostos e as propriedades do fruto.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizados frutos da espécie *Physalis peruviana*, de um lote da safra 2009/2010, produzidos na região de Vacaria, colhidos no primeiro semestre do ano de 2010 e fornecidos pela empresa ITALBRAZ<sup>®</sup> localizada na região serrana do Rio Grande Sul, Brasil. As amostras foram transportadas sob refrigeração contribuindo para manter as propriedades do fruto e, posteriormente armazenadas a  $7,0 \pm 0,5$  °C até o momento das análises. Os frutos foram separados em dois graus de maturação: verde-amarelo (início da maturação) e laranja (final da maturação); e por tamanho: pequeno com uma faixa de 16,17 a 16,89 mm e grande de 20,42 a 22,55 mm de diâmetro, constituindo quatro grupos de estudo.

#### 2.1.1 Análises físico-químicas do fruto

O teor de umidade das amostras foi determinado usando-se uma estufa a  $60 \pm 2$  °C sob vácuo até peso constante - método 31.1.02 (AOAC, 2000).

Os valores de atividade de água das amostras foram determinados em higrômetro digital marca Aqualab série 3TE (Decagon Devices, EUA).

A determinação do pH foi realizada em uma alíquota da amostra desintegrada usando um medidor de pH (Marca ORION Modelo 710A). pH – método 10.197 (AOAC, 2000).

A acidez total titulável das amostras foi quantificada com solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 mol. L<sup>-1</sup> utilizando solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico. método 920.92 (AOAC, 2000).

O teor de ácido ascórbico (vitamina C) foi determinado por volumetria de oxidação com titulação das amostras com solução de 2,6-dicloro-fenol indofenolsódico (DCFI) - método 967.21 (AOAC, 2000).

O teor de sólidos solúveis totais nas amostras foi determinado utilizando-se um refratômetro de bancada (RL3 – Polskie Zaklady Optyczne S.A.), com escala de 0 a 90 °Brix, sendo os resultados expressos em °Brix - sólidos solúveis - método 973.21 (AOAC, 2000).

As cores dos frutos *Physalis* foram avaliados utilizando um espectrofotômetro HunterLab MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, EUA), calibrado e equipado com iluminante D65/10°, espaço cromático nas coordenadas retangulares ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). As medidas foram realizadas em triplicada para cada coordenada.

#### 2.1.2 Flavonóis por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os padrões de rutina, miricetina e quercetina utilizados neste estudo foram adquiridos da Sigma Chemicals Co.<sup>®</sup> (St. Louis, EUA). O metanol grau cromatográfico e o ácido fórmico de grau analítico foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Utilizou-se um sistema Milli-Q da Millipore (Bedford, USA) para purificar a água. Foram utilizadas membranas filtrantes de 0,45 µm Millipore<sup>®</sup> para filtração das amostras e fase-móvel.

Os frutos de *Physalis* utilizados para elaborar o extrato foram preparados com 15 g de frutos frescos e 0,13% de ácido ascórbico (utilizado como antioxidante), triturados em almofariz com auxílio de um pistilo até sua completa desintegração. Sobre a amostra foi adicionado 12 mL de metanol completando o volume de 25 mL com água Milli-Q. A extração foi conduzida por 20 min em ultra-som e o extrato filtrado. Para a análise cromatográfica, foi realizado uma nova filtração por membrana 0,45 µm da Millipore, antes da injeção. Todas as determinações nas amostras foram conduzidas em duplicata.

A separação cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo líquido Agilent, modelo 1200 Series, controlado pelo Software EZChrom Elite, com sistema

automático de injeção (ALS), detector de arranjo diodos (DAD) e bomba quaternária. A coluna em uso foi a Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 5 µm) preenchida com a fase estacionária de 1,8 µm do tipo C18 duplamente capeada (MALDNER; JARDIM, 2009).

A eluição em gradiente teve como fase móvel: solvente A - água/ácido fórmico (99:55:0,45 v/v) e solvente B - metanol/ácido fórmico (99:55:0,45 v/v). O gradiente iniciou-se na proporção de 80:20 (A:B), mantida por 5 minutos, chegando a 58:42 aos 7 minutos e mantida até os 25 minutos, voltando a 80:20 aos 26 minutos e mantida até os 36 minutos para acondicionamento da coluna. A vazão foi de 1,0 mL/min e o volume de amostra injetado foi de 20 µL. Os compostos fenólicos foram quantificados a 370 nm por padronização externa. A identificação dos componentes baseou-se nos espectros obtidos entre 200 e 600 nm em DAD frente aos respectivos tempos de retenção dos padrões injetados.

### 2.1.3 Determinação da atividade antioxidante

Os reagentes acetona, álcool metílico e persulfato de potássio utilizados neste estudo foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha), enquanto que o DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazil), ABTS (2,2 azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico) e o Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) foram adquiridos da Sigma Chemicals Co.<sup>®</sup> (St. Louis, EUA).

Os frutos foram pesados e triturados com o auxílio de um almofariz e pistilo até sua completa desintegração. Sobre a amostra foi adicionado 40 mL de metanol 50%, seguido de homogeneização e repouso por 60 minutos a temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, a amostra foi centrifugada durante 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um balão de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, repetiu-se a segunda extração com 40 mL de acetona 70% e posterior centrifugação de 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e o volume completado para 100 mL com água destilada.

#### 2.1.4 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

O método foi baseado na metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995) modificado por Miliauskas et al. (2004), utilizando como padrão o radical estável DPPH, que sofre redução pelos antioxidantes com mudança de coloração violeta para amarelo, proporcional à concentração da substância redutora da amostra. Os resultados foram expressos em g fruto/  $\mu$  mol. L<sup>-1</sup> DPPH.

#### 2.1.5 Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS

A atividade antioxidante foi analisada pelo método ABTS, conforme metodologia descrita por Re et al. (1999), com modificações segundo Kuskoski et al. (2005), sendo os resultados expressos em  $\mu$  mol. L<sup>-1</sup> trolox/g fruto.

#### 2.1.6 Análise estatística

Na análise estatística dos dados experimentais, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 4 (quatro) tratamentos e três repetições em parcelas sub-divididas. Os tratamentos foram representados por arranjo fatorial (2 x 2), sendo 2 tamanhos e 2 graus de maturação (PIMENTEL, 2000).

As análises foram realizadas em duplicata e em ordem aleatória para as análises de flavonóis, enquanto que para os parâmetros físicos as análises aconteceram em triplicata. A análise de variância (ANOVA) e comparação de médias foram obtidos pelo teste de Tukey a 5%, avaliadas pelo programa Statistica para Windows, versão 7.0, Statsoft.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO FRUTO

##### 3.1.1 Características físicas do fruto

Os resultados apresentados na Tabela 1 referem-se aos parâmetros responsáveis pelas mudanças físicas que caracterizam o início e final da maturação.

O diâmetro e a massa estabelecidos para o fruto menor foi em torno de 16 mm e 3,0 g, enquanto que o fruto maior se aproximou de 21 mm e 5,0 g.

A cor do fruto no início da maturação apresentou médias com tendência mais acentuada ao claro para a luminosidade “L” enquanto que a coordenada “a” apresentou os menores valores tendendo para a cor verde, coloração predominante nessa fase de início de maturação. Para a coordenada “b”, não foi observada diferença significativa entre as amostras para início e final de maturação, ambas tendendo para amarelo (+b), cor decorrente da degradação da clorofila e síntese de carotenóides (CHITARRA; CHITARRA, 1990) . Essas características podem ser utilizadas como suporte para estabelecer parâmetros objetivos para a classificação do grau de maturação dos frutos de *Physalis* produzidos no Brasil, empregado em outros países a exemplo das Normas Técnicas Colombianas NTC 4580, de 1999, referentes ao *Physalis* (AGUILAR et al., 2006).

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DA *Physalis peruviana* L. NO INÍCIO DA MATURAÇÃO (VERDE-AMARELO) E NO FINAL DA MATURAÇÃO (LARANJA)

<i>Physalis</i>	Início da maturação		Final da maturação	
	Pequeno	Grande	Pequeno	Grande
<b>Peso (g)</b>	2,91 ± 0,52 <sup>C</sup>	4,26 ± 0,57 <sup>B</sup>	3,52 ± 0,76 <sup>BC</sup>	5,82 ± 0,40 <sup>A</sup>
<b>Diâmetro (mm)</b>	16,47 ± 0,30 <sup>C</sup>	20,91 ± 0,49 <sup>B</sup>	16,72 ± 0,17 <sup>C</sup>	22,01 ± 0,54 <sup>A</sup>
<b>L*</b>	42,83 ± 0,63 <sup>AB</sup>	44,23 ± 0,84 <sup>A</sup>	40,91 ± 0,81 <sup>C</sup>	41,50 ± 0,53 <sup>BC</sup>
<b>Cor a*</b>	14,68 ± 0,57 <sup>C</sup>	16,79 ± 0,78 <sup>B</sup>	17,88 ± 0,63 <sup>A</sup>	18,67 ± 0,61 <sup>A</sup>
<b>b*</b>	19,71 ± 0,32 <sup>A</sup>	20,23 ± 0,62 <sup>A</sup>	19,74 ± 0,40 <sup>A</sup>	20,30 ± 0,47 <sup>A</sup>

Médias e desvios padrão em triplicatas. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey

### 3.1.2 Características físico-químicas do fruto

Os valores de ratio nas amostras (Tabela 2) demonstram que os resultados aumentaram com a maturação dos frutos. Esse comportamento é resultante do aumento de açúcares totais e a degradação dos ácidos orgânicos, uma vez que o ratio expressa o índice de maturação/qualidade do fruto (AULER; FIORI-TUTIDA; SCHOLZ, 2009).

Os teor de ácido ascórbico (vitamina C) no *Physalis* diminuíram para os frutos maduros (Tabela 2), pois o conteúdo desse ácido naturalmente diminui com o amadurecimento e sofre a influência das condições climáticas, como temperatura, umidade do solo, cultivo e variedade (ESTEVES et al., 1982; N'DRI et al., 2010).

Para a medida de pH, os valores expressos de 3,64 a 3,88 apresentaram-se um pouco acima quando comparado com o valor de 3,43 citado por Repo de Carrasco e Encina Zelada (2008). Situação semelhante ocorreu com acidez total titulável (ATT), cujos valores variaram entre 1,51 a 1,83 g ácido cítrico. 100 g<sup>-1</sup> superior a 0,69 g ácido cítrico. 100 g<sup>-1</sup> analisado por Lima et al. (2010) para *Physalis* com cálice laranja.

Em se tratando de sólidos solúveis (expressos em °Brix), os valores das amostras variaram de 13,2 a 14,1 para o início e 14,8 a 15,1 para o final da maturação. Nessas faixas, os frutos em análise enquadram-se nas classes de cor dois (verde-amarelo) e cor cinco (laranja), respectivamente (início e final), conforme as sete classes distintas descritas nas Normas Técnicas Colombianas NTC 4580 de 1999 (AGUILAR et al., 2006), que utiliza essa classificação para padronizar a qualidade do *Physalis* destinado ao consumo "in natura".

O fruto apresentou umidade de aproximadamente 82,16% e atividade de água com valores superiores a 0,90 ( $p < 0,05$ ) para o mesmo fruto em seus distintos tamanhos, o que proporciona uma maior probabilidade de sofrer alterações químicas e microbiológicas (KHOURYEH, 2005; OLIVEIRA et al., 2009), além de estar sujeita a reações de oxi-redução em função do seu pH baixo. Esses parâmetros estão diretamente relacionados com a qualidade e conservação dos alimentos e contribuem para definir estratégias de colheita e armazenamento adequados (GURJÃO; BRUNO; ALMEIDA, 2006; SOUZA et al., 2008).

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO *Physalis peruviana* NO INÍCIO DA MATURAÇÃO (VERDE-AMARELO) E NO FINAL DA MATURAÇÃO (LARANJA)

<i>Physalis</i>	Início da maturação		Final da maturação	
	Pequeno	Grande	Pequeno	Grande
Umidade (%)	81,44 ± 0,39 <sup>B</sup>	82,89 ± 0,39 <sup>A</sup>	82,66 ± 0,27 <sup>A</sup>	82,02 ± 0,50 <sup>AB</sup>
Aw	0,99 ± 0,01 <sup>AB</sup>	0,99 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,98 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,99 ± 0,01 <sup>AB</sup>
pH	3,64 ± 0,02 <sup>D</sup>	3,69 ± 0,01 <sup>C</sup>	3,79 ± 0,01 <sup>B</sup>	3,88 ± 0,01 <sup>A</sup>
Acidez total titulável, ATT (g ácido cítrico. 100 g <sup>-1</sup> )	1,51 ± 0,07 <sup>B</sup>	1,75 ± 0,01 <sup>A</sup>	1,54 ± 0,02 <sup>B</sup>	1,83 ± 0,30 <sup>A</sup>
Vitamina C (mg. 100 g <sup>-1</sup> )	219,92 ± 8,11 <sup>A</sup>	208,11 ± 5,06 <sup>B</sup>	162,76 ± 5,34 <sup>C</sup>	151,33 ± 8,74 <sup>D</sup>
Sólidos solúveis totais, SST (°Brix)	12,88 ± 0,25 <sup>B</sup>	13,25 ± 0,29 <sup>B</sup>	14,28 ± 0,10 <sup>A</sup>	14,50 ± 0,14 <sup>A</sup>
Ratio (SST/ATT)	8,51	7,55	9,29	7,93

Médias e desvios padrão em triplicatas. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey

### 3.1.3 Compostos fenólicos no fruto *Physalis peruviana*

Ao considerar os teores de compostos fenólicos analisados no *Physalis* (Tabela 3), a rutina no fruto em início de maturação (verde-amarelo) tamanho grande apresentou o menor valor dentre todas as condições de avaliação. Nas demais amostras, a rutina variou de 5,89 µg. g<sup>-1</sup> a 6,90 µg. g<sup>-1</sup> não diferindo estatisticamente. Para a miricetina, observou-se que o fruto grande no início da maturação apresentou o maior conteúdo (1,31 µg. g<sup>-1</sup>), diferindo estatisticamente dos demais frutos com teor médio em torno de 1,11µg. g<sup>-1</sup>.

Chirinos et al. (2010), ao analisar os compostos fenólicos para o fruto camu camu (da mesma família) em diferentes estádios de maturação, constataram que os valores de fenólicos totais aumentam com a maturação do fruto, o que ocorreu apenas para o teor de rutina no fruto *Physalis*. Acredita-se que esses resultados estejam relacionados ao processo de maturação do fruto em função de sua época de colheita, a qual tem influência direta do clima, dentre outros fatores (BOWER et al., 2002; GIEHL et al., 2008).

TABELA 3 - TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM *Physalis* NO INÍCIO DA MATURAÇÃO (VERDE-AMARELO) E NO FINAL DA MATURAÇÃO (LARANJA)

<i>Physalis</i>	Início da maturação		Final da maturação	
	Pequeno	Grande	Pequeno	Grande
Rutina ( $\mu\text{g/g}$ )	$5,89 \pm 0,75^A$	$4,46 \pm 0,17^B$	$6,90 \pm 0,40^A$	$6,76 \pm 0,07^A$
Miricetina ( $\mu\text{g/g}$ )	$1,11 \pm 0,05^B$	$1,31 \pm 0,04^A$	$1,08 \pm 0,01^B$	$1,17 \pm 0,05^B$
Quercetina ( $\mu\text{g/g}$ )	nd*	nd*	nd*	nd*

Médias e desvios padrão em triplicatas. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey \* nd = Não detectado

A quercetina, flavonol aglicona, não foi detectada nos frutos analisados, possivelmente por ser encontrada na natureza principalmente na forma glicosídica (SILVA et al., 2003; BEHLING et al., 2004).

#### 31.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante expressa por ABTS e DPPH foi mais intensa para o fruto pequeno no final da maturação, conforme apresentado na Figura 3. Esses dados informam que o estágio de maturação influencia na atividade antioxidante dos frutos.

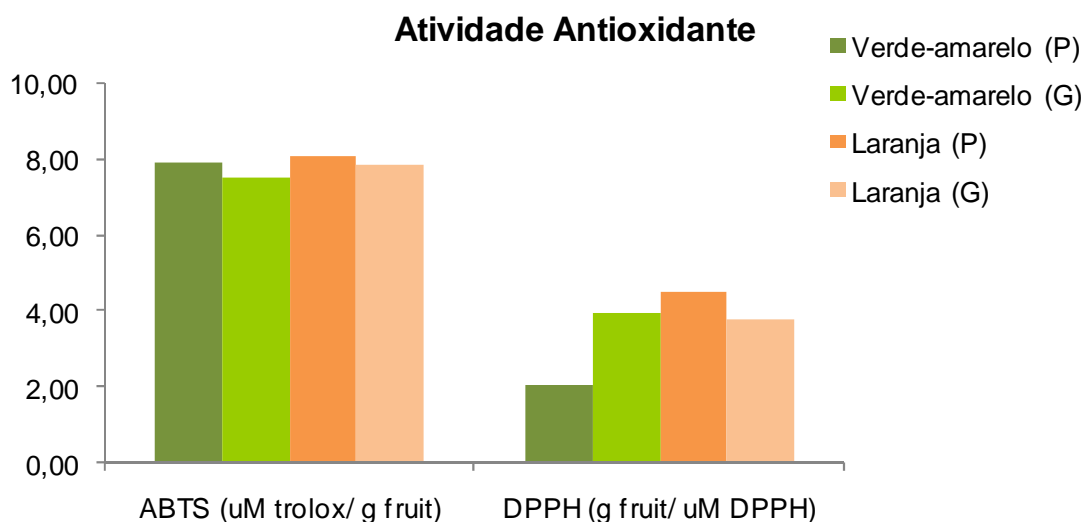


FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO MÉDIA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS E DPPH EM *Physalis* NO INÍCIO E NO FINAL DA MATURAÇÃO

O método em Trolox (ABTS) pode medir a atividade antioxidante equivalente em compostos de natureza hidrofílica e lipofílica que, para essas amostras,



apresentou o maior valor para o fruto pequeno no final da maturação (Tabela 4), incluindo, além do efeito dos compostos fenólicos, a vitamina C e carotenoides dos frutos. Na quantificação por ABTS, foi observada correlação com o teor de rutina, conforme equações apresentadas na Tabela 5, mesmo com a diminuição do conteúdo de miricetina e vitamina C (Tabelas 2 e 3).

TABELA 4 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM *Physalis* NO INÍCIO E NO FINAL DA MATURAÇÃO

<i>Physalis</i>	Início maturação		Final maturação	
	Pequeno	Grande	Pequeno	Grande
ABTS ( $\mu\text{mol. L}^{-1}$ trolox/g fruto)	7,88 $\pm$ 0,01 <sup>AB</sup>	7,49 $\pm$ 0,01 <sup>B</sup>	8,07 $\pm$ 0,01 <sup>A</sup>	7,81 $\pm$ 0,01 <sup>AB</sup>
DPPH (IC <sub>50</sub> ) <sup>*</sup>	2,07 $\pm$ 0,01 <sup>B</sup>	3,95 $\pm$ 0,01 <sup>A</sup>	3,80 $\pm$ 0,01 <sup>A</sup>	3,76 $\pm$ 0,01 <sup>A</sup>

Médias e desvios padrão em triplicatas. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey \* IC<sub>50</sub> expresso em g fruto /  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  DPPH

Para a análise da atividade antioxidante por DPPH, o menor valor foi observado para o fruto pequeno no início da maturação, não havendo diferença para as demais amostras que apresentaram atividade antioxidante na faixa de IC<sub>50</sub> = 3,76 a 3,95, observando-se também a regressão (Tabela 6) com o conteúdo de flavonóis rutina e miricetina para os frutos no final da maturação. No qual Porcu e Rodrigues-Amaya (2003) relataram que a acerola muda de tonalidade com a maturação, devido a degradação da clorofila, a síntese de antocianinas e carotenóides. Segundo Lima et al., (2002), as mudanças de coloração evidenciadas nos diferentes estádios de maturação dos frutos de umbu-cajá, estão associados à degradação da clorofila da casca dos frutos.

Na TABELA 5 existe correlação média negativa significativa ( $p < 0,05$ ) entre a rutina e miricetina, indicando que existe uma relação linear inversa entre essas duas variáveis.

Em relação ABTS e a rutina, a correlação é altamente positiva e altamente significativa, o que corresponde à alta relação linear entre elas, ou seja, à medida que a miricetina aumenta a rutina também aumenta.

TABELA 5 – CORRELAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM *Physalis peruviana*

	Miricetina	ABTS	DPPH
Rutina	-0.66525*	0.80837**	0.35933
Miricetina		-0.55710	0.06039
ABTS			0.18430

\*Correlações significativas ao nível de  $p < 0,05$  \*\* Correlações significativas ao nível de  $p < 0,01$   
 ABTS= atividade antioxidante equivalente em ABTS DPPH= atividade antioxidante equivalente em DPPH

A Tabela 6 apresenta as equações do efeito dos valores codificados de M (maturação), T (tamanho), MT (interação entre os fatores) separadamente sobre cada composto bioativo e as diferentes expressões de atividade antioxidante, apresentando regressão dos fatores e  $r^2$  (coeficiente de determinação das equações) que variou de 0,821 a 0,996.

TABELA 6 – EQUAÇÕES DE REGRESSÃO DOS FATORES MATURAÇÃO E TAMANHO SOBRE OS TEORES DE RUTINA, MIRICETINA, VITAMINA C, ABTS E DPPH EM *Physalis peruviana*

Teores	Equações de regressão	$r^2$
Rutina ( $\mu\text{g. g}^{-1}$ )	$Y_R = 6,00 + 1,65.M - 0,78.T + 0,64.M.T.$	0,833
Miricetina ( $\mu\text{g. g}^{-1}$ )	$Y_M = 1,16 - 0,08.M + 0,14.T - 0,05.M.T.$	0,821
Vitamina C ( $\text{mg. } 100 \text{ g}^{-1}$ )	$Y_{\text{VIT.C}} = 185,53 - 56,97.M - 11,61.T + 0,18.M.T.$	0,978
ABTS ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ trolox. g fruto $^{-1}$ )	$Y_{\text{ABTS}} = 8,66 - 1,65.M + 1,49.T - 1,79.M.T.$	0,996
DPPH ( $\text{IC}_{50}$ )	$Y_{\text{DPPH}} = 3,36 + 0,69.M + 0,16.T - 1,72.M.T.$	0,835

$Y_R$ = Teor rutina,  $Y_M$ = Teor de miricetina;  $Y_{\text{VIT.C}}$ = Teor de vitamina C;  $Y_{\text{ABTS}}$ = Teor de ABTS;  $Y_{\text{DPPH}}$ = Teor de DPPH; M= maturação (início maturação= verde-amarelo; final maturação =laranja); T = tamanho (pequeno de 16,17 a 16,89 mm e grande de 20,42 a 22,55 mm de diâmetro);  $r^2$ = coeficiente de determinação

## 4 CONCLUSÃO

Os valores de ratio, acidez total titulável e sólidos solúveis nas amostras de *Physalis peruviana* demonstraram aumento com a maturação dos frutos e, segundo as Normas Técnicas Colombianas, podem ser classificados em fruto verde-amarelo (início da maturação) e laranja (final da maturação).

O maior teor de rutina determinado nas amostras foi de 6,90  $\mu\text{g. g}^{-1}$  nos frutos laranja de tamanho pequeno e o de miricetina de 1,31  $\mu\text{g. g}^{-1}$  no fruto grande no início da maturação, constatando-se que o tamanho do fruto bem como o grau de maturação tem influência no teor desses compostos fenólicos presentes no *Physalis*.

Entre os flavonóis pesquisados, o fruto não apresenta quercetina em nenhum estágio de maturação em seus distintos tamanhos.

A atividade antioxidante por ABTS apresentou correlação positiva com o teor do flavonol rutina, maior para o fruto pequeno no final da maturação. Já pelo método de DPPH o fruto verde-amarelo grande apresentou a maior atividade antioxidante, porém sem haver diferença estatística quando comparado com o fruto no final da maturação em ambos os tamanhos.

## REFERÊNCIAS

AGUILAR, R. M.; LOMELÍ, A. P.; GAYTÁN, E. L.; HERNÁNDEZ, J. J. A.; AGUIRRE, D. P. Agrofenologia de *Physalis peruviana* L. em invernadero y fertirriego. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v. 12, p. 57-63, 2006.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 232-240, 2007.

AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg, 2000.

AULER, P. A. M.; FIORI-TUTIDA, A. C. G.; SCHOLZ, M. B. S. Qualidade industrial e maturação de frutos de laranjeira 'Valência' sobre seis porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 1158-1167, 2009.

AVILA, J. A.; MORENO, P.; FISCHER, G.; MIRANDA, D. Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18°C. **Acta Agronómica**, v. 55, p. 29-38, 2006.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, p. 113 – 123, 2006.

BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonoide Quercetina: Aspectos Gerais e Ações Biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v.15, p. 285-292, 2004.

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

BOWER, J.; HOLFORD, P.; LATCHÉ, A.; PECH, J. C. Culture conditions and detachment of the fruit influence the effect of ethylene on the climacteric respiration of melon. **Postharvest Biology and Technology**, v. 26, p. 135-146, 2002.

CALABRO, M. L.; GALTIERI, V.; CUTRONEO, P.; TOMMASINI, S.; FICARRA, P.; FICARRA, R. Study of the extraction procedure by experimental design and

validation of a LC method for determination of flavonoids in *Citrus bergamia* juice. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, p. 349–363, 2004.

CARRASCO, R. R.; ZELADA, C. R. E. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 74, p. 108-124, 2008.

CHIRINOS, R.; GALARZA, J.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. **Food Chemistry**, v. 120, p.1019-1024, 2010.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, 1990.

CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL. Inteligencia de Mercados. Perfil de Producto. Uchuva. n. 13, 2000.

DI MAJO, D.; GIAMMANCO, M.; LA GUARDIA, M.; GIAMMANCO, E. T. S.; FINOTTI, E. Flavanones in citrus fruit: structure–antioxidant activity relationships. **Food Research International**, v. 38, p. 1161–1166, 2005.

ESTEVES, M. T. C.; CARVALHO, V. D. Modificações nos teores de amido, açúcares e grau de doçura de seis cultivares de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Prática**, v. 6, p. 208-218, 1982.

FRANCO, L. A.; MATIZ, G. E.; CALLE, J.; PINZÓN, R.; OSPINA, L. F. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. **Biomédica**, v. 27, p. 110-115, 2007.

GIEHL, R. F. H.; FAGAN, E. B.; EISERMANN, A. B.; BRACKMANN, A.; MEDEIROS, S. P.; MANFRON, P. A. Crescimento e mudanças físico-químicas durante a maturação de frutos de meloeiro (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud.) híbrido Torreon. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 371-377, 2008.

GURJÃO, K. C.; BRUNO, R. L. A.; ALMEIDA, F. A. C. Desenvolvimento de frutos e sementes de tamarindo. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 28, p. 351-354, 2006.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RODRIGUES, M. I. Otimização e validação de metodologia analítica para determinação de flavonóis e flavonas por CLAE em hortaliças. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 143-152, 2007.

HUNTERLAB, Applications Note. v. 8, 1996. Disponível em: <<http://www.hunterlab.com>> Acesso em: 18 de agosto de 2010.

ICONTEC. Uchuva (*Physalis peruviana*), para el consumo fresco o destinado al procesamiento industrial. Colombia. Norma Técnica Colombiana NTC 4580, 1999.

KHOURYEH, H. A.; ARAMOUNI, F. M.; HERALD, T. J. Physical, chemical and sensory properties of sugar-free jelly. **Journal of Food Quality**, v. 28, p. 179-190, 2005.

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

LANCHERO, O.; VELANDIA, G.; FISCHER, G.; VARELA, N. C.; GARCIA, H. Comportamiento de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) em poscosecha bajo condiciones de atmósfera modificada activa. **Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v.8, p. 61-68, 2007.

LIMA, C. S. M.; SEVERO, J.; MANICA-BERTO, R.; SILVA, J. A.; RUFATO, L.; RUFATO, A. R. Características físico-químicas de *Physalis* em diferentes colorações do cálice e sistemas de condução. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 1061-1068, 2009.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e química dos frutos de Umbu-Cajazeira (*Spondias* ssp) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 338-343, 2002.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química Nova**, v. 32, p. 214-222, 2009.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v. 85, p. 231-237, 2004.

MONAGAS, M.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. **Food Chemistry**, v. 95, p. 405 -412, 2005.

N'DRI, D.; CALANI, L.; AZZEO, T.; SCAZZINA, F.; RINALDI, M.; DEL RIO, D.; PELLEGRINI, N.; BRIGHENTI, F. Effects of different maturity stages on antioxidant content of Ivorian gnagnan (*Solanum indicum* L.) berries. **Molecules**, v. 15, p. 7125-7138, 2010.

NURIT SILVA, K.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, p. 344 – 351, 2005.

OLIVEIRA, M. M.; CAVALCANTI, M. E.; SANTOS, J. F.; GRANGEIRO, J. I.; PEREIRA, L. M.; SILVA, F. L. H. Isotermas de dessecção da casca de maracujá em diferentes temperaturas. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.3, p. 67-72, 2009.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14 ed. Piracicaba: Nobel, 2000.

PORCU, O. M.; RODRIGUES-AMAYA, D. Carotenóides de acerola: efeito de estágio de maturação e remoção de película. In: Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Inovação na Indústria de Alimentos, 5, 2003, Campinas, **Anais...**São Paulo: UNICAMP, 2003.

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

REPO DE CARRASCO, R.; ENCINA ZELADA, C. R. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 74, p.108-124, 2008.

ROBARDS, K.; ANTOLIVIC, M., Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. **The Analyst**, v. 122, p.11R-34R, 1997.

RUFATO, L.; ROSSI, A.; SCHLEMPER, C.; LIMA, C. S. M; KRETZSCHMAR, A. A. **Aspectos técnicos da cultura da *Physalis***. Lages: CAV/UEDESC, v. 1, 2008. p. 101.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; AGRA, M. F. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 517-522, 2003.

SOUZA, L. T.; ZONTA, J. B.; ZONTA, J. H.; BRAUN, H.; MARTINS FILHO, S. Caracterização física e química de cúbio (*Solanum sessiliflorum* Dunal) durante o seu desenvolvimento. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 39, p. 449-454, 2008.

TOMASSINI, T. C. B.; BARBI, N. S.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre vitaesteróides. **Química Nova**, v. 23, p. 47-57, 2000.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

VENDRAMINI, A. N. A.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 664-668, 2004.

YAO, L. H. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Food for Human Nutrition**, v. 59, p.113-122, 2004.



## CAPÍTULO 3

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIS POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM FRUTOS DE *Physalis peruviana*-RS**

## RESUMO

A *Physalis peruviana* é um fruto exótica da família Solanácea, pequena, redonda, de polpa alaranjada que contém vitaminas e flavonóis. O objetivo deste trabalho foi otimizar a metodologia analítica de extração, hidrólise e separação cromatográfica para determinação de flavonóis em *Physalis*. O Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) foi utilizado para otimizar a extração simultânea à hidrólise, observando os efeitos da concentração de HCl e o tempo de hidrólise em três níveis. A concentração de 8 mol. L<sup>-1</sup> de HCl por 90 min corresponde a melhor condição de extração e hidrólise seguida da separação cromatográfica obtida com o sistema da Agilent coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 com partícula de 3 μ e detector de arranjo de diodos. Os compostos estudados foram rutina, miricetina, quercetina e kaempferol com gradiente de água:metanol acidificados com 0,45% de ácido fórmico. Os teores de flavonóis para rutina, miricetina e kaempferol correspondem a 78,64; 4,67; 2,38 μg. 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente, para o fruto *Physalis peruviana-RS* e a 22,36; 0,99; 1,35 μg. 100 g<sup>-1</sup> para o *Physalis peruviana-PR*.

**Palavras-chave:** Flavonoides. Análise por CLAE. Delineamento composto central rotacional.

## ABSTRACT

The *Physalis peruviana* is an exotic solanaceous family fruit, small, round, with orange pulp that contains vitamins and flavonols. The objective of this study was to optimize the analytical methodology of extraction, hydrolysis and chromatographic separation for the determination of flavonols in *Physalis*. The Central Composite Rotatable Design (CCRD) was used to optimize the simultaneous extraction hydrolysis observing the effects of HCl concentration and hydrolysis time on three levels. The concentration of 8 mol L<sup>-1</sup> HCl for 90 min was the best condition of extraction and hydrolysis followed by chromatographic separation obtained with an Agilent HPLC system, Zorbax Eclipse XDB-C18 with 3 μ particle column and a diode array detector. The compounds rutin, myricetin, quercetin and kaempferol were analysed with a gradient of water:methanol acidified with 0.45% formic acid. The content of *Physalis peruviana*-RS flavonols as rutin, myricetin and kaempferol correspond to 78.64 and 4.67, 2.38 μg 100 g<sup>-1</sup>, respectively, and 22.36, 0.99, and 1.35 μg 100 g<sup>-1</sup> for *Physalis peruviana*-PR, respectively.

**Key words:** Flavonoids. HPLC analysis. Central composit rotational design.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Physalis peruviana* é um fruto exótico da família *Solanacea* distribuída nas zonas temperadas do globo terrestre, pequena, redonda, de polpa alaranjada envolta em um cálice, apresentando em sua composição vitaminas A e C, fósforo, ferro e flavonóis (VELASQUEZ; GIRALDO; ARANGO, 2007; RODRIGUES et al., 2009; MUNIZ et al., 2011).

Os compostos fenólicos constituem uma importante classe, sendo os flavonoides o maior grupo de pigmentos fenólicos, os quais estão presentes em frutas, vegetais e grãos utilizados pelas indústrias química, farmacêutica e alimentícia (SOBRINHO et al., 2010).

Segundo Heim; Tagliaferro e Bobilya (2002), mais de 4000 estruturas de flavonoides já foram identificadas e ao serem consumidas apresentam efeitos benéficos ao organismo humano (JÁUREGUI et al., 2007), como antioxidante, anti-alergênico, anti-inflamatório, antiviral, vasoprotetor e anti-hepatotóxico (YAO et al., 2004; VALDAMERI, 2008; VEITCH; GRAYER, 2008), cuja ação está relacionada à ocorrência de processos oxidativos que variam em função do conteúdo de fenólicos existentes na matriz (SCALZO et al., 2005; ALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; CAMPOS et al., 2008; ROCKENBACH et al., 2008).

Os flavonoides são compostos distribuídos no reino vegetal, presentes em frutos, sementes e outras partes das plantas na forma de glicosídeos ou agliconas. Quimicamente, caracterizam-se como difenilpropanos com 15 átomos de carbono arranjados em dois anéis benzênicos ligados a um anel pirano, divididos em classes de acordo com suas propriedades químicas (ANGELO; JORGE, 2007; IGNAT; VOLF; POPA, 2011). A partir dessa estrutura, várias combinações podem ser formadas, principalmente com a presença de hidroxilas e metoxilas. Entre esses flavonoides, pode-se citar as principais classificações: flavonas, flavanonas, flavanóis, antocianidinas, isoflavonas e flavonóis, sendo que este último tem sido analisado principalmente em relação à quercetina, miricetina e kaempferol (MOON; WANG; MORRIS, 2006), por serem considerados antioxidantes naturais encontrados facilmente em frutas e vegetais (KARAKAUA, 2004; BROINIZI et al., 2007).

Os flavonoides quando presentes na forma glicosilada (ligada a moléculas de açúcar) são de difícil determinação quantitativa, devido ao grande número de glicosídeos diferentes existentes para cada composto. Sendo assim, o método mais prático para liberar as agliconas é a hidrólise, cujos glicosídeos são hidrolisados normalmente utilizando-se metanol acidificado em HCl ou etanol, acetona ou a mistura desses e suas combinações (ANTOLOVICH et al., 2000; ZADERNOWSKI; NACZK; NESTEROWICZ, 2005; NACZK; SHAHIDI, 2006).

A influência de fatores como o tempo, a temperatura, o método de extração, a concentração do ácido empregado, o tamanho da amostra, as condições do processo, a presença de substâncias interferentes como ceras, gorduras, clorofila (HOFFMANN-RIBANI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008; SOBRINHO et al., 2010), que diferenciam-se para cada composto fenólico da planta (por se tratar de materiais vegetais diversificados que interagem entre si), podem desencadear a formação de complexos insolúveis (KALLITHRAKA et al., 1995; NACZK; SHAHIDI, 2006; ROMANIK et al., 2007; BIESAGA, 2011).

Essas especificidades evidenciam a importância da otimização e validação dos métodos analíticos devido às diferenças na natureza da matriz dos flavonoides. A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido a técnica mais utilizada para detectar esses flavonóis (ALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA; RODRIGUES, 2007).

A otimização das variáveis pode ser obtida por meio da técnica de Análise de Superfície de Resposta (ASR), que permite determinar os efeitos entre fatores e suas interações, estudando a relação entre resposta e variável para otimizar produtos ou processos (RODRIGUES; IEMMA, 2005; BAS; BOYACI; 2007; YANG; LIU; GAO, 2009).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer a melhor condição cromatográfica para separação de flavonóis, otimizar e validar a extração e hidrólise na *Physalis peruviana*-RS.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRAS

As *Physalis* da safra 2011, envoltas pelo cálice natural, foram fornecidas pela empresa Italbraz<sup>®</sup> de Vacaria-RS, transportadas e mantidas sob refrigeração a  $7,0 \pm 0,5$  °C até o momento das análises. Os frutos selecionados apresentavam características de cor tendendo ao laranja, tamanho grande, separados do cálice, para posterior extração com solvente orgânico.

A amostra utilizada teve o registro e tombamento da espécie realizado pelo Museu Botânico Municipal (MBM) da Prefeitura de Curitiba-PR, e um exemplar dessa espécie (exsicata) foi depositado no Herbário desse Museu, registrado sob número 373.648, a fim de documentar o fruto em estudo para servir de base de consulta.

Os frutos da mesma espécie (*Physalis peruviana*-PR) provenientes da safra 2011 da região de Ponta Grossa – PR foram selecionados utilizando-se os mesmos critérios citados anteriormente, seguindo diretamente para extração, a fim de comparar os dados e averiguar a influência das condições de clima, solo, plantio, entre outros, no conteúdo dos flavonóis.

### 2.2 REAGENTES E PADRÕES PARA CROMATOGRAFIA

A água utilizada para o preparo das amostras e fases móveis foi purificada em um sistema Milli-Q da Millipore (Bedford, USA). O metanol grau cromatográfico e o ácido fórmico de grau analítico foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). As fases móveis e amostras foram filtradas em filtros politetrafluoroetileno (PTFE) da Millipore<sup>®</sup>, com poros de 0,45 µm de diâmetro.

Os padrões de rutina, miricetina, quercetina e kaempferol utilizados neste estudo foram adquiridos da Sigma Chemicals Co.<sup>®</sup> (St. Louis, EUA). Soluções

estoque dos padrões foram preparadas pela dissolução de cada flavonoide em metanol grau cromatográfico, em concentração de aproximadamente 200  $\mu\text{g. mL}^{-1}$ , conservadas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  e protegidas da luz. As soluções estoque apresentaram estabilidade superior a dois meses nessas condições.

### 2.3 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

A separação cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo líquido Agilent 1200 Series, modelo G1311A, controlado pelo Software EZChrom Elite, com sistema automático de injeção (ALS), detector de arranjo diodos (DAD) e bomba quaternária. A coluna em uso foi a Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 3  $\mu\text{m}$ ). Os compostos fenólicos foram quantificados a 370 nm por padronização externa. A identificação dos componentes baseou-se nos espectros obtidos entre 200 e 600 nm em DAD frente aos respectivos tempos de retenção dos padrões injetados. O fluxo da fase móvel foi de 0,2 mL/min e o volume de injeção 5  $\mu\text{L}$ .

A condição cromatográfica de melhor separação para os flavonóis em *Physalis* foi estabelecida utilizando-se uma mistura dos quatro padrões em estudo rutina, miricetina, quercetina e kaempferol, dissolvidos em metanol, empregando-se nos testes diferentes gradientes de fases móveis aquosas, com solvente orgânico metanol, acidificados com 0,3% de ácido acético ou ácido fórmico. Para os extratos hidrolisados das amostras com ou sem adição de padrões, a melhor condição de separação conseguida para os padrões foi ajustada até a resolução do cromatograma dos flavonóis na matriz em estudo.

## 2.4 PREPARO DAS AMOSTRAS

### 2.4.1 Extração com solvente orgânico

Uma vez que o *Physalis* pode conter glucosídeos de flavonóis, conjugados ou polimerizados, foi verificada a eficiência da extração desses compostos com acetona ou metanol. A extração partiu de 15,0 g do fruto homogeneizado com 0,02 g de antioxidante ácido ascórbico, triturados em almofariz com auxílio de um pistilo até sua completa desintegração com diferentes percentuais de soluções aquosas dos solventes orgânicos. Os flavonóis foram extraídos em ultra-som marca UNIQUE, modelo USC 1400 por um período de sessenta minutos, filtrados em papel filtro em balão de 50 mL. Antes da injeção no cromatógrafo todas as amostras extraídas sofreram uma segunda filtração em filtro (PTFE) Millipore de 0,45 µm de diâmetro.

### 2.4.2 Extração com hidrólise simultânea dos flavonóis

Para testar a melhor condição de extração e hidrólise sem promover a degradação dos flavonoides na *Physalis*, foi utilizado o delineamento composto central rotacional (DCCR). Foram adotadas 15,0 g do fruto desintegrado com 0,02 g de ácido ascórbico adicionado no preparo da amostra, acrescidos de 10 mL de HCl em diferentes concentrações molares iniciais (três níveis codificados em -1, 0 e 1) e 25 mL de metanol. A solução de extração assim obtida consistiu de diferentes concentrações molares finais de HCl em solução aquosa a 50% em metanol (v/v) e 0,4% de antioxidante. Os extratos obtidos foram para refluxo a 90 °C durante diferentes períodos (três tempos codificados em -1, 0 e 1), resfriados e o volume completado a 50 mL com metanol. Em seguida, cada amostra foi filtrada em papel filtro e depois em filtro (PTFE) Millipore de 0,45 µm de diâmetro, antes da injeção no cromatógrafo.



A melhor condição de extração/hidrólise estabelecida para o fruto também foi adotado para uma quantificação prévia no cálice do fruto, empregando-se a quantidade de amostra de 1,0 g.

#### 2.4.3 Planejamento experimental e análise de superfície de resposta

A otimização da extração simultânea à hidrólise para obtenção dos flavonóis foi estudada através da análise de superfície de resposta, utilizando DCCR constituído por 12 experimentos conduzidos aleatoriamente, adotando os fatores apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 - FATORES E NÍVEIS DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA EXTRAÇÃO E HIDRÓLISE DE FLAVONÓIS EM *Physalis peruviana*-RS

Fruto	Fatores (mol. L <sup>-1a</sup> /min <sup>b</sup> )				
	Ponto axial inferior (-1,41)	Nível inferior (-1)	Nível intermediário (0)	Nível superior (+1)	Ponto axial superior (+ 1,41)
<b><i>Physalis peruviana</i></b>	3,2 mol. L <sup>-1</sup> /60 min	4 mol. L <sup>-1</sup> /30 min	6 mol. L <sup>-1</sup> / 60 min	8 mol. L <sup>-1</sup> /90 min	8,8 mol. L <sup>-1</sup> /60 min

<sup>a</sup> Concentração molar de HCl na solução de hidrólise; <sup>b</sup> tempo de hidrólise

O DCCR constituído de x-fatores e três níveis demanda um experimento constituído de  $2x + 2x + C$ , onde  $2x$  pontos situam-se nos cantos do quadrado, representando a magnitude do experimento, nos quais os pontos axiais  $2x$  ficam a uma distância codificada  $\pm 1,41 (\pm \alpha)$  em relação ao centro do delineamento, medindo a possibilidade danão linearidade dos valores obtidos de flavonóis em função dos fatores.

Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando-se o programa Estatística para Windows, versão 7.0, Statsoft.

Os resultados para flavonóis foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) para verificar a adequação dos modelos e análise das superfícies de respostas.

#### 2.4.4 Validação do método

As curvas analíticas das soluções padrões foram construídas em triplicata com cinco concentrações diferentes (RIBANI et al., 2004), baseando-se nas faixas estimadas dos teores no fruto em questão. A linearidade do método estudado foi verificada pelos coeficientes de determinação das curvas analíticas de cada padrão de flavonol. Por cálculo, definiu-se o limite de detecção ( $LD = 3,3 SD/S$ ) e quantificação ( $LQ = 3 LD$ ), sendo SD o desvio padrão do branco e S a inclinação da curva analítica, confirmados pela injeção de soluções preparadas nos valores calculados. Para definição da exatidão do método, foram preparadas triplicatas das amostras nas condições de extração e hidrólise de flavonóis para três níveis de fortificação a partir das soluções estoque dos padrões de 70  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (miricetina e kaempferol), 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (rutina) e 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (quercetina), homogeneizados e filtrados em filtro (PTFE) Millipore de 0,45  $\mu\text{m}$  de diâmetro antes da injeção no cromatógrafo. Para definir a precisão, foram repetidas sete amostras conforme a melhor condição estabelecida para a metodologia.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Inicialmente, foi empregada coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) com volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ , vazão de 1,0  $\text{mL min}^{-1}$  e diversas composições de fase móvel de água:metanol, acidificadas com 0,3% de ácido acético, os quais não foram eficientes para separar a quercetina do kaempferol, como também foi observado no trabalho de Hoffmann-Ribani e Rodrigues-Amaya (2008). Sendo assim, acidificou-se a fase-móvel até 0,45% de ácido acético, no entanto, esse resultado também não apresentou separação dos componentes. Então, alterou-se a acidificação para 0,45% de ácido fórmico, que resultou em separação entre os flavonóis, porém com assimetria dos picos (cauda). Para essa condição, o gradiente iniciou com a proporção de 80:20 (água:metanol), mantido por 5 minutos, chegando aos 58:42 aos 7 minutos e mantido até os 25 minutos, voltando a 80:20 aos 26 minutos, permanecendo até os 36 minutos sempre com gradiente linear.

A melhor separação aconteceu com o uso de uma nova coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 3  $\mu\text{m}$  diâmetro de partícula) com volume de injeção de 5  $\mu\text{L}$  e vazão de 0,2  $\text{mL min}^{-1}$ , para o gradiente água:metanol (acidificados com 0,45% de ácido fórmico) iniciando em 80:20, mantido por 5 minutos, chegando aos 48:52 aos 6 minutos e mantido até os 29 minutos, mudando para 28:72 aos 30 minutos que seguiram até os 40 minutos subsequentes, voltando para 80:20 aos 43 minutos permanecendo até os 60 minutos para o re-equilíbrio da coluna antes da próxima injeção. A eluição dos flavonóis rutina, miricetina, quercetina e kaempferol ocorreram, respectivamente, em torno de 30,05; 38,40; 44,90 e 49,20 min.

### 3.2 CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO E HIDRÓLISE DOS FLAVONÓIS

O preparo da amostra compreendeu a definição da concentração da solução aquosa e o tipo de solvente orgânico, onde aplicando as diferentes soluções aquosas foram obtidas as concentrações de flavonóis em *Physalis* para os solventes orgânicos metanol e acetona apresentados na Tabela 2

TABELA 2 - CONCENTRAÇÃO DE SOLVENTE UTILIZADO NA EXTRAÇÃO DE FLAVONÓIS PARA *Physalis peruviana*-RS

Solvente (%)	Concentração dos flavonóis ( $\mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$ )					
	Rutina		Miricetina		Kaempferol	
	Metanol	Acetona	Metanol	Acetona	Metanol	Acetona
<b>32</b>	46,95	34,57	5,69	5,11	3,22	1,16
<b>60</b>	83,51	71,16	3,12	4,72	1,90	1,90
<b>80</b>	62,50	78,64	2,30	4,67	2,04	1,33

Os teores de flavonóis obtidos para extração com acetona foram inferiores aos obtidos para metanol. Assim, a melhor condição de extração dos flavonóis em *Physalis peruviana*-RS ocorreu com o solvente orgânico metanol na proporção de 60% em solução aquosa para rutina e na proporção de 32% para miricetina e kaempferol, sendo que a quercetina não foi detectada nas condições empregadas. A rutina foi o flavonol obtido em maior quantidade para o fruto em análise. Assim, essa concentração de metanol a 60% seria a indicada para as condições de extração. A proporção de 60% de metanol está próxima da utilizada nas extrações relatadas por vários trabalhos de análise de flavonóis de outros autores (ROCKENBACH et al., 2008; VAZQUEZ et al., 2008), que empregaram a proporção de 50%. Portanto, esse percentual foi adotado no trabalho, considerando ainda a influência para análise dos outros flavonóis como miricetina e kaempferol de melhor extração em 32% de metanol.

### 3.3 OTIMIZAÇÃO POR DCCR DA EXTRAÇÃO/HIDRÓLISE DOS FLAVONÓIS

A Tabela 3 apresenta os conteúdos dos flavonóis analisados para a *Physalis peruviana*-RS, com valores variando de 5,33 a 78,64  $\mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  para o flavonol rutina; 0,41 a 6,59  $\mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  para miricetina e 0,67 a 11,57  $\mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  para kaempferol. A quercetina não foi detectada na amostra nas condições dos experimentos.

TABELA 3 - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DO DCCR E TEORES DOS FLAVONOIDES ANALISADOS PARA *Physalis peruviana*-RS

Ensaio	Variáveis				Concentração dos flavonóis ( $\mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$ )		
	HCl		Tempo		Rutina	Miricetina	Kaempferol
	Valor Codif.	Valor Real (mol. L <sup>-1</sup> )	Valor Codif.	Valor Real (min)			
1	-1	4	-1	30	5,33	0,41	0,67
2	+1	8	-1	30	48,88	6,38	0,67
3	-1	4	+1	90	29,82	4,27	3,18
4	+1	8	+1	90	78,64	4,67	2,38
5	-1,41	3,2	0	60	34,57	5,11	11,57
6	+1,41	8,8	0	60	40,11	5,46	0,94
7	0	6	-1,41	18	61,49	6,59	1,23
8	0	6	+1,41	102,3	53,56	2,36	1,30
9	0	6	0	60	21,16	2,17	1,81
10	0	6	0	60	23,65	2,84	1,90
11	0	6	0	60	29,86	1,89	1,48
12	0	6	0	60	26,83	1,19	1,13

mol. L<sup>-1</sup> = concentração molar de HCl; min= tempo de hidrólise; Codif.= codificado

Apenas o experimento para rutina resultou em coeficientes de regressão de modelo polinomial quadrático e significativo ( $p < 0,05$ ) para extração/hidrólise, conforme a Tabela 4.

TABELA 4 - ESTIMATIVAS DOS COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO MODELO POLINOMIAL PARA A RESPOSTA DO TEOR DE FLAVONOL ANALISADO PARA *Physalis peruviana*-RS

	RUTINA	
	Coefficientes	p-valor*
B <sub>0</sub>	19,48*	0,0438
B <sub>1</sub>	- 5,19*	0,0408
B <sub>11</sub>	- 0,34	0,0660
B <sub>2</sub>	- 0,19	0,1449
B <sub>22</sub>	2,8·10 <sup>-4</sup>	0,6826
B <sub>12</sub>	0,04*	0,0203

B = parâmetro; \*p-valor < 0,05

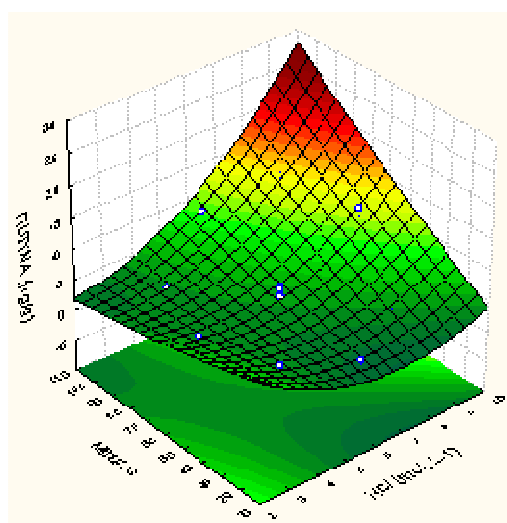
A Tabela 5 apresenta o coeficiente de determinação  $R^2$  e  $F_{CAL}$  (razão entre o Quadrado médio da regressão pelo Quadrado médio do resíduo) maior que  $F_{TAB}$ , para o modelo matemático que explica os dados experimentais para a rutina ( $R^2$  0,91).

TABELA 5 - EQUAÇÃO QUE REPRESENTA OS TEORES RUTINA (Y) PRESENTES NA *Physalis peruviana*-RS EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MOLAR DE ÁCIDO CLORÍDRICO [HCl] NO TEMPO DE HIDRÓLISE

EQUAÇÃO $Y = (\mu\text{g rutina. } 100 \text{ g}^{-1} \text{ fruto})$ (valores codificados)	$R^2$	$F_{CALC}$	$F_{TAB}(\alpha, v_R, v_r)$
$Y = 18,19 - 5,04 [HCl] - 0,33 [HCl]^2 - 0,15 \text{ min} + 0,04 [HCl] \text{ min}$	0,91	14,38	4,39

$R^2$  = coeficiente de determinação;  $F_{calc} = (QM_{Regressão} / QM_{Resíduo})$ ;  $\alpha$  = nível de significância (5%);  $v_R$  = graus de liberdade da regressão;  $v_r$  = graus de liberdade dos resíduos; [HCl] = concentração molar de HCl; min = tempo de hidrólise em minutos

A superfície de resposta (Figura 1) indica que a melhor condição de extração poderia ocorrer acima do máximo utilizado no experimento ( $[HCl] = 8 \text{ mol. L}^{-1}$  por 90 minutos). No entanto, adotou-se essa condição de extração/hidrólise para obter e manter a estrutura da rutina, flavonol glucosídico (quercetina 3-o-rhamnoglucosídeo) liberada pela hidrólise de glucosídeo na forma conjugada ou polimerizada no fruto (CALABRO et al., 2004). Apesar de o modelo indicar um crescimento progressivo nos níveis de rutina conforme aumentam as condições de concentração de ácido e tempo de hidrólise. Na prática, acima das condições máximas do experimento, irá ocorrer a liberação da forma aglicona, quercetina, e conseqüente a redução dos teores de rutina.



RUTINA

FIGURA 1 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA A DETERMINAÇÃO DA RUTINA EM *Physalis peruviana*-RS

### 3.4 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ADOTADA

As curvas analíticas passaram pela origem e apresentaram linearidade para as faixas de concentração estudadas (Tabela 6), conforme coeficientes de determinação obtidos que foram superiores a 0,987. Os limites de detecção (LD) obtidos para rutina, miricetina, quercetina e kaempferol foram de 3,69; 0,56; 0,35 e 0,62  $\mu\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ , respectivamente.

TABELA 6 - PROPRIEDADES DAS CURVAS ANALÍTICAS PARA OS PADRÕES DE FLAVONOIS

Flavonóide	Faixa de concentração ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Coefficiente de determinação ( $r^2$ )	Coefficiente de variação entre as triplicatas (%)
Rutina	0,6 – 14	0,987	1,0
Miricetina	0,5 – 23	0,999	0,9
Quercetina	0,4 – 46	0,999	0,9
Kaempferol	0,5 – 23	0,998	0,9

A precisão do método obtida pelo coeficiente de variação das repetições resultou em 1,5%; 1,5%; 1,9% e 1,5%, respectivamente, para rutina, miricetina, quercetina e kaempferol. A média em percentagem dos valores da recuperação dos flavonoides adicionados sobre a amostra resultou exatidão da metodologia de 90,35%; 110,24%; 83,85% e 105,26%, respectivamente, para rutina, miricetina, quercetina e kaempferol.

### 3.5 TEOR DE FLAVONÓIS PELA METODOLOGIA VALIDADA PARA FRUTO *Physalis peruviana*-RS

Aplicando-se a separação cromatográfica estabelecida após o emprego das condições ideais de extração/ hidrólise ( $\text{HCl } 8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  por 90 minutos) nas variedades do fruto *Physalis peruviana*-RS e *Physalis peruviana*-PR, os teores de rutina, miricetina e kaempferol obtidos são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 - TEORES DE FLAVONÓIS EM *Physalis peruviana*

	Rutina	Miricetina ( $\mu\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ )	Kaempferol
<i>Physalis peruviana</i> -RS	78,64 <sup>a</sup>	4,67 <sup>a</sup>	2,38 <sup>a</sup>
<i>Physalis peruviana</i> -PR	22,36 <sup>b</sup>	0,99 <sup>b</sup>	1,35 <sup>b</sup>
<b>Cálice</b> <i>Physalis peruviana</i> -RS	14,34 <sup>c</sup>	0,63 <sup>c</sup>	1,10 <sup>c</sup>

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey

O teor de flavonóis (rutina, miricetina e kaempferol) presente no fruto *Physalis peruviana*-RS foi superior ao apresentado para o seu cálice e também ao fruto *Physalis peruviana*-PR, nas mesmas condições de extração de flavonóis. A diferença observada para a *Physalis peruviana*-RS frente a *Physalis peruviana*-PR pode ser atribuída, entre outros fatores, a diferença no solo, clima e condições de plantio.



## 4 CONCLUSÃO

A melhor condição cromatográfica para determinar os flavonóis em *Physalis peruviana*-RS foi estabelecida com o uso da coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 3  $\mu\text{m}$ ) com fluxo da fase móvel de 0,2 mL.  $\text{min}^{-1}$  e o volume de injeção de 5  $\mu\text{L}$ . Obteve-se a melhor separação utilizando na fase móvel água e metanol acidificados com ácido fórmico 0,45% (v/v) empregando-se gradiente linear em todas as alterações da proporção de fase móvel que iniciou com água:metanol, 80:20, mantida por 5 minutos, passando para 48:52 aos 6 minutos, permanecendo até os 29 minutos. Aos 30 minutos alcançou a proporção de 28:72 mantida até os 40 minutos para voltar a 80:20 aos 43 minutos, conservada até aos 60 minutos para acondicionamento da coluna.

A extração e hidrólise dos flavonóis obtida pela otimização estabeleceu como melhor condição a concentração molar de HCl 8 mol.  $\text{L}^{-1}$  e o tempo de hidrólise de 90 min, estabelecida com base no flavonol rutina.

A metodologia aplicada resultou no teor de flavonóis de rutina, miricetina e kaempferol de 78,64; 4,67 e 2,38  $\mu\text{g. 100 g}^{-1}$ , respectivamente, para o fruto *Physalis peruviana*-RS, e nos teores de 22,36; 0,99 e 1,35  $\mu\text{g. 100 g}^{-1}$  para o *Physalis peruviana*-PR obtida da região de Ponta Grossa-PR.

As condições de extração-hidrólise para cálice do *Physalis*, não foram realizadas, apenas um levantamento prévio com essa amostra foi utilizado nas condições de extração e hidrólise estabelecidas para matriz (fruto *Physalis*), resultando na concentração de 14,34; 0,63 e 1,10  $\mu\text{g. 100 g}^{-1}$ , respectivamente, para rutina, miricetina e kaempferol.

## REFERÊNCIAS

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

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 232-240, 2007.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.; ROBARDS, K.; RYAN, D. **Analyst**, v. 25, p. 989–1009, 2000.

BIESAGA, M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 18, p. 2505–2512, 2011.

BAS, D.; BOYACI, I. H. Modeling and optimization I: usability of response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 836-845, 2007.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 902-908, 2007.

CALABRO, M. L.; GALTIERI, V.; CUTRONEO, P.; TOMMASINI, S.; FICARRA, P.; FICARRA, R. Study of the extraction procedure by experimental design and validation of a LC method for determination of flavonoids in *Citrus bergamia* juice. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, p. 349 – 363, 2004.

CAMPOS, F. M.; MARTINO, H. S. D.; SABARENSE, C. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. **Alimentos e Nutrição**, v.19, p. 481-490, 2008.

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

HOFFMANN-RIBANI, R; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Química Nova**, v. 31, p. 1378-1384, 2008.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RODRIGUES, M. I. Otimização e validação de metodologia analítica para determinação de flavonóis e flavonas por CLAE em hortaliças. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 143- 152, 2007.

IGNAT, I.; VOLFF, I.; POPA, I. V. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1821-1835, 2011.

JÁUREGUI, A. M. M.; RAMOS-ESCUADERO, D. F.; ALVARADO-ORTIZ, C. U.; CASTAÑEDA, B. C. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 73, p. 142-149, 2007.

KALLITHRAKA, S.; GARCIA VIGUERA, C.; BRIDLE, P.; BAKKER, J. Survey of solvents for the extraction of grape seed phenolics. **Phytochemical Analysis**, v. 6, p. 265-267, 1995.

KARAKAYA, S. Bioavailability of Phenolic Compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, n. 6, p. 453-64, 2004.

MOON, Y. J.; WANG, X.; MORRIS, M. E. Dietary flavonóides: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. **Toxicology in vitro**, v. 20, p. 187-210, 2006.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; PELIZZA, T. R.; MARCHI, T.; DUARTE, A. E.; LIMA, A. P. F.; GARANHANI, F. Sistemas de condução para o cultivo de *Physalis* no planalto catarinense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 830-838, 2011.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p.1523–1542, 2006.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771- 780, 2004.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; CATANEO, C.; GONZAGA, L. V.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis peruviana* L. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, p. 271-276, 2008.

RODRIGUES, E.; ROCKENBACH, I. I.; CATANEO, C.; GONZAGA, L. V.; CHAVES, E. S.; FETT, R. Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis peruviana* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 642 - 645, 2009.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005. p. 187.

ROMANIK, G.; GILGENAST, E.; PRZYJAZNY, A.; KAMINSKI, M. Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p. 253 – 261, 2007.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, p. 207–213, 2005.

SOBRINHO, T. J. S. P.; GOMES, T. L. B.; CARDOSO, K. C. M.; AMORIM, E. L. C. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Química Nova**, v. 33, p. 288-291, 2010.

VALDAMERI, G. **Efeitos da flavona sobre o metabolismo mitocondrial**. 75 f. Dissertação de Mestrado em Ciência-Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, 2008.

VÁZQUEZ, G.; FONTENLA, E.; SANTOS, J.; FREIRE, M. S.; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, J.; ANTORRENA, G. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 28, p. 279-285, 2008.

VEITCH, N. C.; GRAYER, R. J. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. **Natural Product Reports**, v. 25, p. 555-611, 2008.

VELASQUEZ, H. J. C.; GIRALDO, O. H. B.; ARANGO, S. S. P. Estudio preliminar de la resistencia mecánica a la fractura y fuerza de firmeza para fruta de uchuva (*Physalis peruviana* L.) **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v. 60, p. 3785 - 3796, 2007.

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M. J.; NESTEROWICZ, J. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, p. 2118–2124, 2005.

YANG, B.; LIU, X.; GAO, Y. Extraction optimization of bioactive compounds (crocin, geniposide and total phenolic compounds) from Gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis) fruits with response surface methodology. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 610–615, 2009.

YAO, L. H.; JIANG, Y. M.; SHI, J.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; DATTA, N.; SINGANUSONG, R.; CHEN, S. S. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 59, p. 113-122, 2004.

## CAPÍTULO 4

# **INFLUÊNCIA DO FILME DE POLIETILENO DE BAIXA DENSIDADE (PEBD) E CONGELAMENTO SOBRE A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO DE *Physalis* *peruviana***

## RESUMO

O fruto *Physalis* é um fruto tropical consumida principalmente “in natura”, o que limita a sua utilização em períodos de entressafra. Neste estudo, avaliou-se a influência do filme de polietileno de baixa densidade (PEBD), período e temperatura de congelamento na vida útil do fruto *Physalis peruviana*. Os frutos foram acondicionados em embalagens de espessura de 10 e 20  $\mu\text{m}$  e mantidos nas temperaturas de -10 e -20 °C, por 180 dias. Foram realizadas a cada trinta dias, para avaliação do efeito das condições de armazenagem sobre os frutos, as análises físico-químicas de pH, sólidos solúveis, acidez total titulável, vitamina C, fenóis totais, flavonóis, cor e textura. Os resultados demonstraram que os filmes PEBD de 10 e 20  $\mu\text{m}$  na temperatura de -20°C mantiveram os parâmetros do ratio médio de 8,84, podendo conferir acidez para os frutos e contribuindo para conservação de 73,31% de vitamina C, 81,10% para os fenóis totais e 44,23%; 30,76% e 24,65% para rutina, miricetina e kaempferol, respectivamente, por 180 dias.

**Palavras-chave:** Armazenamento. Fruto. Temperatura. Embalagem.

## ABSTRACT

The *Physalis* fruit is a tropical fruit mainly consumed "in natura" commonly used in bakery which limits its use in the harvest periods. In this study, we evaluated the influence of low density polyethylene film (LDPE) and freezing period in the life of the whole fruit of *Physalis peruviana* that were packaged with films of 10 and 20  $\mu\text{m}$  thickness, and maintained at temperatures of -10 and -20  $^{\circ}\text{C}$  for 180 days. Samples were taken at periods of 30 days, to evaluate the effect of storage conditions on the fruits physicochemical parameters according to next analyses: pH, soluble solids, titratable acidity, vitamin C, total phenolics, flavonols, color and texture. The results showed that the LDPE films of 10 and 20  $\mu\text{m}$  at a temperature of -20  $^{\circ}\text{C}$  maintained the best parameters ratio of 8.84 indicating acidity for fruits and contributed to the conservation of 73.31% vitamin C, 81.10% total phenols, and 44.23%, 30.76% and 24.65% for rutin, myricetin and kaempferol, respectively, after 180 days conservation.

**Key words:** Storage. Fruit. Temperature. Packing.



## 1 INTRODUÇÃO

A *Physalis peruviana* é uma planta da família Solanacea, originária da Amazônia que reproduz-se facilmente com baixo custo de implantação por ser nativa, o que torna a produção acessível aos pequenos produtores, aumentando a oferta dessa espécie (LORENZI; MATOS, 2002). Hotéis, restaurantes e mercados nacionais e internacionais especializados caracterizam-se por distribuir frutos exclusivos e exóticos como o *Physalis* que apresentam compostos fenólicos, carotenos e vitaminas A e C (VELASQUEZ; GIRALDO; ARNGOS, 2007; SEVERO et al., 2010). No entanto, a comercialização prevalece sob a forma “in natura” o que limita sua distribuição, devido à alta perecibilidade em longa distância, por isso é de fundamental importância o desenvolvimento de técnicas que possibilitem o transporte e o armazenamento por um período maior com o intuito de conquistar mercados promissores, que em sua grande maioria localiza-se distante.

A principal comercialização do *Physalis peruviana* é na forma de fruto inteiro, com ou sem cálice em bandejas envoltas com filme plástico, pesando aproximadamente 500 g. De modo geral, é utilizado inteiro no confeito de doces, tortas, bolos e outros produtos no qual o fruto apresenta-se como parte da decoração.

A tecnologia de industrialização dos alimentos permite adaptar técnicas de processamento apropriadas a fim de oferecer ao mercado consumidor um produto que satisfaça suas exigências. A conservação dos alimentos é sob o ponto de vista econômico um dos processos de maior importância para a indústria de alimentos por aumentar a vida útil e reduzir as perdas pós-colheita.

O consumo de frutos tem aumentado e nesse contexto o congelamento, que preserva as características químicas e nutricionais das polpas de frutos (SAHARI; BOOSTANI; HAMIDI, 2004; MELO et al., 2008), pode ser adotado para o fruto inteiro, possibilitando o fornecimento em períodos de entressafra (PEREIRA et al., 2006; EVANGELISTA; VIEITES, 2006; MACHADO et al., 2007). No entanto, são raros os trabalhos com fruto fresco congelado, na qual as enzimas (hidrolases e peroxidases) permanecem ativas, pois o congelamento gera microsítios com maior

concentração de solutos onde essas enzimas são potencializadas (BARTLEY; KNEE, 1982; BAHÇEÇI et al., 2005).

É importante inativar as enzimas como a polifenoloxidase devido ao seu vínculo com mudanças na coloração de frutos e hortaliças, degradação de compostos fenólicos, com importante valor antioxidante e perda de aroma (BAHÇEÇI et al., 2005; GÖKMEN et al., 2005).

O uso de embalagens flexíveis como plástico de polietileno pela indústria facilita a distribuição de alimentos com qualidade. É importante ressaltar que o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento adotados influenciam a vida de prateleira desses produtos, o que torna necessário analisar as suas características quando sob congelamento (SAHARI; BOOSTANI; HAMIDI, 2004; BRUNINI et al., 2004; EVANGELISTA; VIEITES, 2006; RAIMUNDO et al., 2009).

As embalagens mais comuns de uso para essa finalidade têm sido o filme de polietileno de baixa densidade (PEBD), que cobre os frutos distribuídos sobre bases de poliestireno expandido, entre outros (LOPES; MATTIETTO; MENEZES, 2005; PEREIRA et al., 2005; AGUIAR et al., 2008; SEVERO et al., 2010).

Existem poucas referências de estudos a respeito de frutos inteiros embalados e congelados, o que consta trata-se basicamente de polpa de fruto em diferentes condições de congelamento ou efeito da embalagem na vida útil de polpa de frutos. Para morango congelado, foi estudado o efeito de baixas temperaturas e a adição de ácido ascórbico por Sahari, Boostani e Hamidi (2004), que constataram que as temperaturas -12, -18 e -24 °C acarretam perdas na cor, teor de ácido ascórbico, acidez e pH dos frutos no decorrer de três meses de armazenagem.

Polpas de manga, pitanga, bacuri, morango foram estudadas, respectivamente, por Brunini et al. (2002), Lopes; Mattietto e Menezes (2005), Silva et al. (2010) e Sahari; Boostani e Hamidi (2004), que observaram principalmente uma influência da temperatura e tipo de embalagem empregada sobre o aumento ou diminuição das características de cor, pH, acidez para cada matriz.

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo verificar a influência do filme de PEBD, através do controle das características físico-químicas, durante o armazenamento do fruto inteiro *Physalis peruviana* sob diferentes temperaturas e períodos de congelamento.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Química Analítica e no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná (UFPR), com frutos da região de Vacaria-RS cedidas pela empresa Italbraz<sup>®</sup>.

As amostras foram transportadas sob refrigeração ( $7,0 \pm 0,5$  °C) e mantidas nessa condição por aproximadamente 10 h até o momento das análises, contribuindo para manter as propriedades do fruto.

### 2.2 CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO SOB CONGELAMENTO

Os frutos refrigerados foram separados do cálice natural que os envolve, selecionados em porções com as mesmas características de cor tendendo ao alaranjado, preferencialmente no tamanho grande, pesados e embalados em sacos de PEBD de 10 e 20  $\mu\text{m}$  com dimensões de 15 por 25 cm, preenchidas com aproximadamente 200 g de amostra. As embalagens foram seladas, a vácuo para evitar possível oxidação dos componentes, que podem ocorrer mesmo a baixas temperaturas (VC 999<sup>®</sup>). As amostras foram acondicionadas em freezer para o congelamento uniforme das embalagens nas temperaturas de -10 e -20 °C.

### 2.3 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO FRUTO

As análises foram realizadas com os frutos “in natura” e nos congelados em intervalos de 30 dias durante 180 dias.

Para amostra do fruto “in natura”, o valor de atividade de água ( $a_w$ ) foi determinado em higrômetro digital *Aqualab* série 3TE (Decagon Devices, EUA). O teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla a  $550-600 \pm 2$  °C durante cinco horas, método 900.02A (AOAC, 2000). A análise de lipídios foi realizada por extração com éter etílico durante cinco horas em extrator de Soxhlet – método 920.39C (AOAC, 2000) e o teor de proteína foi definido pelo nitrogênio total, utilizando a metodologia de Kjeldahl e o fator de 5,75 para conversão em proteína, método 955.04C (AOAC, 2000).

A determinação do pH foi realizada em uma alíquota da amostra desintegrada usando um medidor de pH (ORION Modelo 710A).

A acidez total titulável das amostras foi quantificada com solução padronizada de hidróxido de sódio  $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$  utilizando solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico, método - 920.92 (AOAC, 2000).

O teor de sólidos solúveis totais nas amostras foi determinado utilizando-se um refratômetro de bancada (RL3 – Polskie Zaklady Optyczne S.A.), com escala de 0 a 90 °Brix, sendo os resultados expressos em °Brix corrigidos para 20 °C, sólidos solúveis, método 973.21 (AOAC, 2000).

O teor de ácido ascórbico (vitamina C) foi determinado por volumetria de oxidação com titulação das amostras com solução de 2,6-dicloro-fenol indofenolsódico (DCFI), método 967.21 (AOAC, 2000).

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (1927). Os resultados obtidos, tendo o ácido gálico como padrão de referência, foram expressos em mg de equivalentes a ácido gálico (GAE).  $100 \text{ g}^{-1}$  da amostra.

## 2.4 FLAVONÓIS POR CROMATOGRAFIA A LÍQUIDO DE ALTA EFICIÊNCIA

Os padrões de rutina, miricetina, quercetina e kaempferol utilizados neste estudo foram adquiridos da Sigma Chemicals Co.<sup>®</sup> (St. Louis, EUA). O metanol grau cromatográfico e o ácido fórmico de grau analítico foram adquiridos da Merck

(Darmstadt, Alemanha). Utilizou-se um sistema Milli-Q da Millipore (Bedford, USA) para purificar a água reagente. Foram utilizadas membranas filtrantes de 0,45 µm da Millipore® para filtração das amostras e fase-móvel.

Os frutos de *Physalis peruviana* utilizados para elaborar o extrato foram preparados com 15 g de frutos frescos e 0,13% de ácido ascórbico (utilizado como antioxidante), triturados em almofariz com auxílio de um pistilo até sua completa desintegração, acrescidos de 10 mL de HCl 8 mol. L<sup>-1</sup> e 25 mL de metanol. A solução foi extraída por 90 minutos sob refluxo a 90 °C, resfriada e o volume completado a 50 mL com metanol. Em seguida, cada amostra foi filtrada em papel filtro e depois em filtro (PTFE) Milipore de 0,45 µm de diâmetro, antes da injeção no cromatógrafo.

A separação cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo a líquido Agilent, modelo 1200 Series, controlado pelo Software EZ Chrom Elite, com sistema automático de injeção (ALS), detector de arranjo diodos (DAD) e bomba quaternária. A coluna em uso foi a Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 3 µm). A eluição em gradiente teve como fase móvel: solvente A - água/ácido fórmico (99:55:0,45, v/v) e solvente B - metanol/ácido fórmico (99:55:0,45, v/v). O gradiente água:metanol iniciou em 80:20, mantido por 5 minutos, chegando aos 48:52 aos 6 minutos e mantido até os 29 minutos, mudando para 28:72 aos 30 minutos que seguiram até os 40 subsequentes minutos, voltando para 80:20 aos 43 minutos permanecendo até os 60 minutos para o re-equilíbrio da coluna antes da próxima injeção. A vazão foi de 0,2 mL/min e o volume de amostra injetado de 5 µL. Os compostos fenólicos foram quantificados a 370 nm por padronização externa. A identificação dos componentes baseou-se nos espectros obtidos entre 200 e 600 nm em DAD frente aos respectivos tempos de retenção dos padrões injetados.

Os valores de cores dos frutos *Physalis peruviana* foram medidos utilizando-se um espectrofotômetro HunterLab MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, EUA), calibrado e equipado com iluminante D<sub>65</sub>/10°, o qual definiu o espaço cromático nas coordenadas retangulares (L\*, a\*, b\*). As medidas foram realizadas em triplicada para cada coordenada.

A análise de textura nas amostras foi realizada através da técnica de punção e penetração, a qual permite avaliar dois parâmetros de textura concomitantemente: força de cisalhamento (resistência ao corte) e consistência (dureza). Utilizou-se o

analisador de textura (texturômetro) Brookfield CT3 (BrasEq), com célula de carga de 25 kg, probe (2 mm) de punção cilíndrico varando o corte. A velocidade do teste foi de 1,50 mm/s e a distância de penetração de 20 mm, com força de contato de 30 g com valores expressos em Newton (N). As leituras foram realizadas a temperatura ambiente. Para o fruto congelado, padronizou-se o descongelamento por 30 minutos antes das leituras.

Todas as determinações nas amostras “in natura” e congeladas foram conduzidas em triplicata.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram estatisticamente avaliados por análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de significância com auxílio do programa Statistica para Windows, versão 7.0, Statsoft.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DO FRUTO “IN NATURA”

Os resultados das análises físico-químicas efetuadas no *Physalis* “in natura” estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO *Physalis peruviana* L. “IN NATURA”

Determinações	<i>Physalis</i> “in natura” <sup>a</sup>
Umidade (g. 100 g <sup>-1</sup> )	75, 17 ± 1,22
Sólidos solúveis totais, SST (° Brix)	14, 73 ± 0,64
Acidez total titulável, ATT (g ác. cítrico. 100 g <sup>-1</sup> )	1,62 ± 0,06
Vitamina C (mg. 100 g <sup>-1</sup> )	102, 68 ± 2,53
Cinzas (g. 100 g <sup>-1</sup> )	0, 99 ± 0,08
Proteínas (g. 100 g <sup>-1</sup> )	1,23 ± 0,93
Lipídios (g. 100 g <sup>-1</sup> )	0, 10 ± 0,06
pH	5, 07 ± 0,06
Aw	0, 991 ± 0,01
L*	19, 95 ± 1,07
Cor a*	11,52 ± 0,39
b*	22,43 ± 0,78

<sup>a</sup> Médias e desvios padrão em triplicatas.

O teor de umidade para o *Physalis* “in natura” neste trabalho foi 8,5% menor que o valor relatado para o fruto de mesma variedade, analisada em dois estádios de maturação por Licodiedoff e Ribani (2012) com valores variando entre 81,44 e 82,89 g. 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente, para final e início de maturação.

A atividade de água na amostra corresponde a um produto de elevada umidade (0,80 a 0,99 de aw), como ocorre para os frutos que contêm grande quantidade de água, caracterizando um alimento suscetível à ação de microorganismos (aw ≥ 0,90).

O fruto apresenta pH baixo e conseqüentemente acidez alta (ATT) indicando um fruto mais ácido. Conforme Lanchero et al. (2007), o fator pH é considerado variável e pouco eficiente na indicação de ponto de colheita do *Physalis*, devido possivelmente aos efeitos do estádio de maturação ou condições de plantio, clima, solo etc. (FERREYRA et al., 2007; SEVERO et al., 2010).

O conteúdo de vitamina C (102,68 mg. 100 g<sup>-1</sup>) foi inferior quando comparado com os dados obtidos por Licodiedoff e Ribani (2012) para o mesmo fruto no início da maturação, 214,01 mg. 100 g<sup>-1</sup>, aproximando-se dos teores dos frutos no final da maturação, 157,04 mg. 100 g<sup>-1</sup>. Vallilo et al. (2005) analisaram a vitamina C em frutos como a jabuticaba, pitanga, jambo, pera do campo, cambuci, goiaba vermelha, relatando valores de 12,80; 14,00; 20,00; 32,80; 33,00; 40,00 mg. 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. O *Physalis peruviana* comparado a esses frutos apresenta alto teor de vitamina C.

O fruto não é rico em lipídeos (o que o torna um fruto bem visto em dietas com baixo teor calórico), apesar da aparência de uma película de cera sobre a superfície da casca, e também não é rica em minerais e proteínas como normalmente ocorre para os frutos.

Os sólidos solúveis totais do fruto estão de acordo com o estabelecido pelo Codex (2005), cujo valor mínimo para *Physalis* deve ser de 14 °Brix (Tabela 1). Cada fruto de *Physalis peruviana* contém de 150 a 300 pequenas sementes muito duras (AGUILAR et al., 2006) que contribuem com o teor de sólidos totais.

A relação entre os sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT) representa o equilíbrio entre o teor de açúcares e ácidos, permitindo expressar objetivamente a contribuição desses no sabor dos frutos. Bolzan, Cuquel e Lavoranti (2011) relataram a relação média de 14,00 para *Physalis angulata* e *peruviana* da região de Quatro Barras-PR, com coloração externa classificada por alaranjada, sob refrigeração a 10 °C por 90 dias de armazenagem. Licodiedoff e Ribani (2012), trabalhando com os frutos *Physalis peruviana* da região de Vacaria-RS, alaranjados (final do estágio de maturação), encontraram valores médios para ratio de 8,61. Neste estudo, a relação SST/ATT de 9,09 obtida representa um fruto com alta acidez, quando comparada aos frutos de Quatro Barras-PR, estando muito próxima ao ratio para as amostras provenientes da mesma região, Vacaria-RS, devido possivelmente às diferenças de clima, solo e plantio entre as safras.

A cromaticidade do fruto apresentou uma tendência mais acentuada ao claro para a luminosidade L\*, enquanto que a cromaticidade a\* proporcionou valores maiores tendendo para o vermelho, indicando uma maturação do fruto predominante nessa condição, assim como a cromaticidade b\* tendeu para o amarelo. A coloração externa da casca alaranjada enquadra-se com o Índice de Coloração (IC) cinco,



segundo as Normas Técnicas Colombianas – NTC 4580 da Icontec (1999), conforme as especificações que seguem: COR 0 - Fruto fisiologicamente desenvolvido de cor verde escuro; COR 1 - Fruto verde um pouco mais claro; COR 2 - A cor verde se mantém envolta do cálice e no centro do fruto aparecem tonalidades alaranjado; COR 3 - Fruto de cor alaranjada claro com regiões verdes na zona do cálice; COR 4 - Fruto de cor alaranjada claro; COR 5 - Fruto de cor alaranjada; COR 6 - Fruto de cor alaranjada intenso.

### 3.2 EFEITO DA EMBALAGEM E TEMPO DE ESTOCAGEM

A Tabela 2 apresenta os resultados referentes às médias obtidas em cada período para as características físico-químicas dos frutos acondicionados em embalagens de PEBD de 10 e 20  $\mu\text{m}$ , armazenados em temperatura de -10 e -20 °C durante 180 dias.

TABELA 2 – MÉDIA DOS VALORES DE pH, ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (ATT) E SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST) DE *Physalis peruviana* EMBALADA EM FILMES DE PEBD DE 10 E 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , ARMAZENADA À TEMPERATURA DE -10 E -20 °C DURANTE 180 DIAS

E ( $\mu\text{m}$ )	T° (°C)	Período de armazenamento (dias)					
		30	60	90	120	150	180
<b>pH</b>							
10	-10	3,62 ± 0,06 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	3,75 ± 0,03 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	3,67 ± 0,05 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	3,50 ± 0,05 <sup>c</sup> <sub>AB</sub>	3,48 ± 0,03 <sup>c</sup> <sub>BC</sub>	3,58 ± 0,03 <sup>bc</sup> <sub>A</sub>
10	-20	3,55 ± 0,04 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	3,48 ± 0,02 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	3,51 ± 0,02 <sup>bc</sup> <sub>B</sub>	3,47 ± 0,02 <sup>c</sup> <sub>AB</sub>	3,47 ± 0,02 <sup>c</sup> <sub>C</sub>	3,63 ± 0,03 <sup>a</sup> <sub>A</sub>
20	-10	3,56 ± 0,03 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	3,66 ± 0,05 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	3,62 ± 0,03 <sup>ab</sup> <sub>AB</sub>	3,60 ± 0,09 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	3,62 ± 0,04 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	3,70 ± 0,02 <sup>a</sup> <sub>A</sub>
20	-20	3,57 ± 0,11 <sup>abc</sup> <sub>A</sub>	3,45 ± 0,03 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	3,73 ± 0,10 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	3,46 ± 0,02 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	3,55 ± 0,03 <sup>bc</sup> <sub>AB</sub>	3,65 ± 0,05 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>
<b>ATT (g ácido cítrico. 100 g<sup>-1</sup>)</b>							
10	-10	1,99 ± 0,08 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,81 ± 0,06 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	1,68 ± 0,02 <sup>bc</sup> <sub>A</sub>	1,53 ± 0,14 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	1,53 ± 0,02 <sup>c</sup> <sub>AB</sub>	1,50 ± 0,02 <sup>c</sup> <sub>A</sub>
10	-20	1,76 ± 0,07 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,65 ± 0,07 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,59 ± 0,06 <sup>a</sup> <sub>AB</sub>	1,60 ± 0,07 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,60 ± 0,05 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,58 ± 0,07 <sup>a</sup> <sub>A</sub>
20	-10	1,75 ± 0,04 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,72 ± 0,03 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	1,67 ± 0,05 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	1,30 ± 0,16 <sup>d</sup> <sub>A</sub>	1,33 ± 0,03 <sup>cd</sup> <sub>C</sub>	1,53 ± 0,02 <sup>bc</sup> <sub>A</sub>
20	-20	1,85 ± 0,36 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,78 ± 0,18 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,52 ± 0,03 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	1,45 ± 0,02 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1,47 ± 0,05 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	1,68 ± 0,03 <sup>a</sup> <sub>A</sub>
<b>SST (°Brix)</b>							
10	-10	13,18 ± 0,93 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	14,58 ± 0,08 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	13,50 ± 0,25 <sup>ab</sup> <sub>AB</sub>	12,88 ± 0,46 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	13,25 ± 0,28 <sup>b</sup> <sub>AB</sub>	13,70 ± 0,26 <sup>ab</sup> <sub>B</sub>
10	-20	14,25 ± 0,25 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	14,85 ± 0,91 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	14,17 ± 1,46 <sup>a</sup> <sub>AB</sub>	14,71 ± 0,31 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	14,44 ± 0,56 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	14,77 ± 0,50 <sup>a</sup> <sub>AB</sub>
20	-10	14,33 ± 0,14 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>	15,02 ± 0,78 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	13,07 ± 1,08 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	13,33 ± 0,15 <sup>ab</sup> <sub>B</sub>	13,12 ± 0,20 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	14,05 ± 0,94 <sup>ab</sup> <sub>AB</sub>
20	-20	13,73 ± 0,70 <sup>cd</sup> <sub>A</sub>	13,67 ± 0,06 <sup>cd</sup> <sub>A</sub>	15,63 ± 0,44 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	12,71 ± 0,61 <sup>d</sup> <sub>B</sub>	14,21 ± 0,68 <sup>bc</sup> <sub>AB</sub>	15,20 ± 0,09 <sup>ab</sup> <sub>A</sub>

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 5% pelo Teste de Tukey  
 Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% pelo Teste de Tukey  
 E = embalagem; T° = temperatura; Médias e desvios padrão em triplicatas.

Constatou-se através deste estudo que o tempo de armazenamento influenciou na alteração de pH das amostras que oscilaram entre os valores de 3,45 a 3,75 com algumas diferenças estatísticas ao nível de 5% por Tukey durante os 180 dias, porém não diferindo para as amostras no início (pH 3,57) e ao final do período (pH 3,64).

A acidez total titulável para as amostras acondicionadas em filmes de PEBD de 10 e 20  $\mu\text{m}$  armazenadas à temperatura de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sofreu variação ao longo do tempo, apresentando uma tendência ao decréscimo dos valores que variaram em média de 1,87 a 1,52 g ácido cítrico.  $100\text{ g}^{-1}$ . Para os frutos embalados em filmes de 10 e 20  $\mu\text{m}$  armazenados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , os valores médios de ATT diminuíram de 1,80 para 1,63 g ácido cítrico.  $100\text{ g}^{-1}$ , mas essa variação não foi significativa ( $p>0,05$ ), sendo assim é possível deduzir que a temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  tem uma tendência em melhor auxiliar na conservação da acidez durante o armazenamento. Esses dados indicam que no período de conservação sob congelamento a  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  os cristais formados são mais instáveis ocorrendo uma maior taxa de reação nos microsítios. Possivelmente em decorrência do metabolismo dos ácidos presentes, o que indica que as reações metabólicas de senescência nos frutos não foram totalmente interrompidas, mesmo com o congelamento a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , em decorrência de uma proporção de água líquida, que ainda não congelou, e possui propriedades solvente e reativa, que permite a continuidade de reações, segundo também observado por Barret Reina; Chitarra; Chitarra, (1993) e Mélo; Lima; Nascimento (2000).

Ao estudar a oscilação de sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) dos frutos, observou-se valores médios entre 13,87 a 14,43  $^{\circ}\text{Brix}$  com uma tendência ao aumento dos teores, não sendo significativo ( $p>0,05$ ) para as amostras armazenadas no filme de 10  $\mu\text{m}$  a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , conseqüentemente mantendo para essa condição o ratio médio de  $8,84 \pm 0,39$  sem alteração significativa no período de 180 dias. Esse índice reflete o balanço entre acidez e açúcares, cuja faixa recomendada é de 12 a 14 para o consumo do fruto na forma de suco segundo Silva et al. (2010). Conforme essa recomendação, o ratio obtido expressa acidez mais acentuado do fruto *Physalis peruviana*.

### 3.3 EFEITO DA TEMPERATURA E DA EMBALAGEM NA CONSERVAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM *Physalis peruviana*

A Tabela 3 apresenta os valores de correlação entre as cinco características estudadas na conservação do *Physalis peruviana*.

TABELA 3 – CORRELAÇÃO ENTRE AS ANÁLISES DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM *Physalis peruviana*

	Fenóis Totais	Rutina	Miricetina	Kaempferol
<b>Vitamina C</b>	0.21273	-0.35122	-0.35124	-0.78156**
<b>Fenóis Totais</b>		0.41690	0.41692	0.06318
<b>Rutina</b>			1.00000**	0.25107
<b>Miricetina</b>				0.25110

\*Correlações significativas ao nível de  $p < 0,05$  \*\* Correlações significativas ao nível de  $p < 0,01$

Como se pode observar a vitamina C apresentou correlação altamente negativa com o kaempferol, indicando que existe uma relação linear inversa entre essas variáveis.

Entre os flavonóis a rutina demonstra que a correlação é altamente positiva e significativa ( $p < 0,01$ ).

Na Tabela 4 existe correlação entre as embalagens e as temperaturas de armazenamento, as quais são altamente positiva e altamente significativas 1%, indicando que existe uma relação linear entre essas variáveis, e medida que uma aumenta a outra também aumenta.

TABELA 4 – CORRELAÇÃO ENTRE AS EMBALAGENS E AS SUAS TEMPERATURAS DE ARMAZENAMENTO DO FRUTO *Physalis peruviana*

	E 10 $\mu$ -20 °C	E 20 $\mu$ -10 °C	E 20 $\mu$ -20 °C
<b>E 10<math>\mu</math> -10 °C</b>	0.99120**	0.99678**	0.99707**
<b>E 10<math>\mu</math> -20 °C</b>		0.98187**	0.99344**
<b>E 20<math>\mu</math> -10 °C</b>			0.99215**

\*\* Correlações significativas ao nível de  $p < 0,01$

E10 $\mu$  -10 °C= embalagem 10 $\mu$ (micra) -10 °C E10 $\mu$  -20 °C= embalagem 10 $\mu$ (micra) -20 °C

E20 $\mu$  -10 °C= embalagem 20 $\mu$ (micra) -10 °C E20 $\mu$  -20 °C= embalagem 20 $\mu$ (micra) -20 °C

A Tabela 5 apresenta as equações do efeito dos valores codificados de E (embalagem); T (temperatura), separadamente, sobre cada composto bioativo, vitamina C e fenóis totais, apresentando regressão linear e  $r^2$  (coeficiente de determinação das equações) que variou de 0,908 a 0,995.

TABELA 5 – EQUAÇÕES DE REGRESSÃO DOS FATORES EMBALAGEM E TEMPERATURA SOBRE OS TEORES DE VITAMINA C, FENÓIS TOTAIS, RUTINA, MIRICETINA E KAEMPFEROL, AO FINAL DE 180 DIAS DE ARMAZENAMENTO DO FRUTO *Physalis peruviana*

Teores	Equações de regressão	r <sup>2</sup>
Vitamina C (mg. 100 g <sup>-1</sup> )	$Y_{Vit.C} = 96,79 + 1,98.E - 8,62.T - 56.E.T.$	0,912
Fenóis totais ( mg. 100 g <sup>-1</sup> )	$Y_{F.T.} = 593,07 - 33,49.E - 35,59.T + 26,20.E.T.$	0,995
Rutina (µg. g <sup>-1</sup> )	$Y_R = 9,52 - 1,82.E + 0,02.T + 0,54.E.T.$	0,923
Miricetina (µg. g <sup>-1</sup> )	$Y_M = 0,79 - 0,20.E + 0,05.T - 0,01.E.T.$	0,908
Kaempferol (µg. g <sup>-1</sup> )	$Y_K = 0,52 - 0,45.E + 0,42.T + 0,36.E.T.$	0,981

E = embalagem; T = temperatura;  $Y_{Vit.C}$ = Teor vitamina C,  $Y_{F.T.}$ = Teor fenóis totais,  $Y_R$ = Teor rutina,  $Y_M$ = Teor de miricetina,  $Y_K$ = Teor de kaempferol

Os frutos exercem um papel importante na alimentação por conter naturalmente ácido ascórbico, como constatado no *Physalis peruviana*, cujo teor de vitamina C presente no fruto “in natura” foi de 102,68 mg. 100 g<sup>-1</sup>, sendo que para o fruto congelado a média geral encontrada durante o período de 180 dias de armazenagem foi de 75,28 ± 6,67 mg. 100g<sup>-1</sup> variando entre acréscimos e decréscimos, conforme observado por Silva et al. (2010), em cagaita, e Vera et al. (2005), em pequi. Sendo assim, constatou-se a preservação do conteúdo de ácido ascórbico no *Physalis peruviana* em média de 73,31% do valor do fruto “in natura”. Yamashita et al. (2003), observaram a conservação de 57% para acerola “in natura” embalada e congelada a – 18 °C por um período de 4 meses.

Em relação ao teor de fenóis totais do fruto durante o armazenamento, o valor médio inicial 731,37 e final 593,07 mg. 100 g<sup>-1</sup> mostram que houve degradação com a estocagem, mantendo 81,10% desses compostos. A Tabela 5 apresenta para o tempo de 180 dias equação de regressão para rutina, miricetina e kaempferol, quanto à espessura da embalagem e temperaturas. Conforme Toor e Savage (2006), o decréscimo nos fenólicos solúveis observado até o final de período de armazenamento pode ser devido à destruição da estrutura celular pelo frio. Os vacúolos nas células dos frutos são os principais compartimentos onde se acumulam os fenólicos solúveis (MACHEIX, FLEURIET, BILLOT, 1990). Neste estudo, observou-se situação semelhante para os teores de rutina, miricetina e kaempferol, que demonstram maior tendência ao decréscimo desses compostos na temperatura de – 10 °C.

Os flavonóis rutina e miricetina analisados no fruto *Physalis peruviana* reportados por Licodiedoff e Ribani (2012), de 6,83 e 1,12 µg. g<sup>-1</sup>, respectivamente, foram definidos por metodologia sem otimização e hidrólise no processo de

extração. Neste trabalho, utilizando metodologia analítica de extração otimizada com hidrólise, os valores médios obtidos no início foram 22,90; 1,17; 0,73  $\mu\text{g. g}^{-1}$  e ao final 10,13; 0,81; 0,55  $\mu\text{g. g}^{-1}$  para a rutina; miricetina e kaempferol, respectivamente. Esses valores correspondem a uma conservação de 44,23% para rutina, 69,23% para miricetina e 75,34% para kaempferol, sendo expressão média de uma variação entre acréscimos e decréscimos observados nos teores durante o período de 180 dias de armazenagem. Acredita-se que esses flavonóis podem estar relacionados com a ação na inibição da destruição enzimática e não-enzimática do ácido ascórbico, possivelmente em decorrência do uso da embalagem associada à baixa temperatura, resultando na conservação no teor do ácido, conforme observado para acerola congelada e armazenada por 9 meses a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Corte-Eleutério e Salgado, 1997).

### 3.4 EFEITO DA TEMPERATURA E EMBALAGEM NA CONSERVAÇÃO DA CROMA DOS FRUTOS DE *Physalis peruviana*

As Figuras 1, 2, e 3 apresentam o comportamento dos parâmetros referentes à cromaticidade dos frutos.

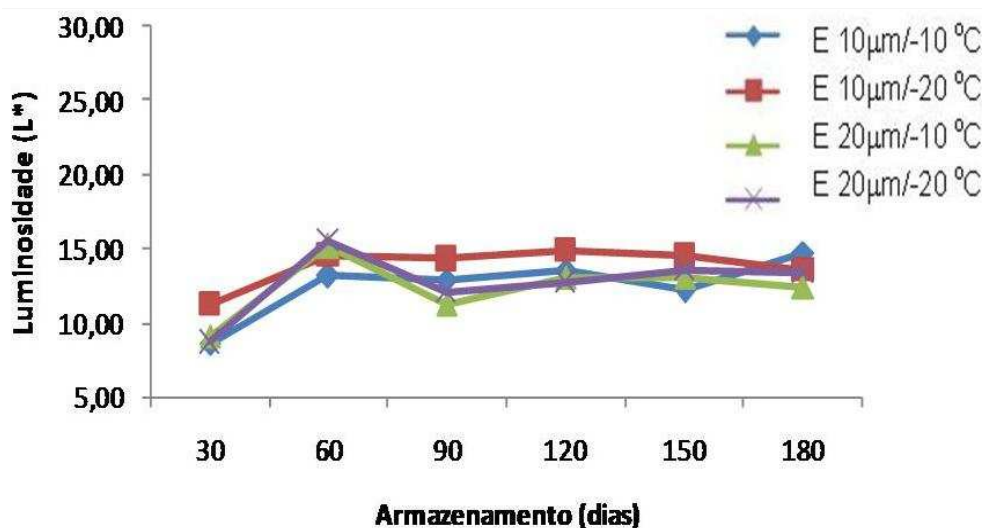


FIGURA 1 – COORDENADA L\* PARA O PARÂMETRO LUMINOSIDADE

Ao analisar por Tukey a 5% de probabilidade os dados da Figura 1, constatou-se que a coordenada L\* não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) ao

longo de 180 dias para as amostras embaladas em filme de PEBD com 10  $\mu\text{m}$  de espessura em -10 e -20  $^{\circ}\text{C}$ . Os frutos acondicionados em PEBD de 20  $\mu\text{m}$  em -10 e -20  $^{\circ}\text{C}$  apresentaram acréscimos e decréscimos, porém mantendo a luminosidade igual à inicial ( $p>0,05$ ) ao final do acondicionamento.

Os valores de  $a^*$  (intensidade de vermelho), Figura 2, não apresentaram variação significativa ( $p>0,05$ ) após 60 dias ( $a^* = 11,53$ ), mantida até aos 180 dias ( $a^* = 11,48$ )

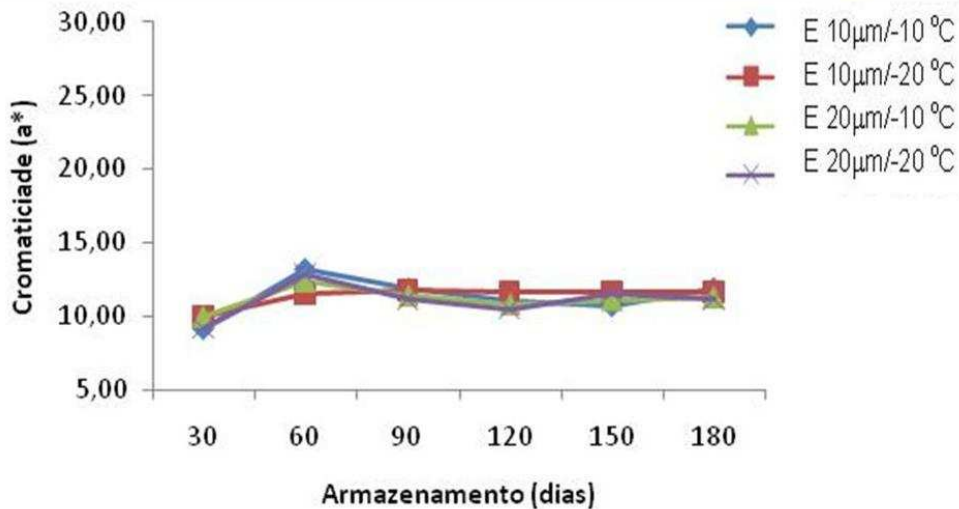


FIGURA 2 – CROMATICIDADE  $a^*$  PARA O PARÂMETRO COR VARIANDO DO AZUL AO VERDE

O comportamento do valor de croma  $b^*$  (intensidade de amarelo), durante o período de estocagem, nos diversos tratamentos (Figura 3), resultou em uma tendência de aumento do valor dessa coordenada ao longo do tempo de estocagem até aos 180 dias, atingindo valor médio de 21,60.

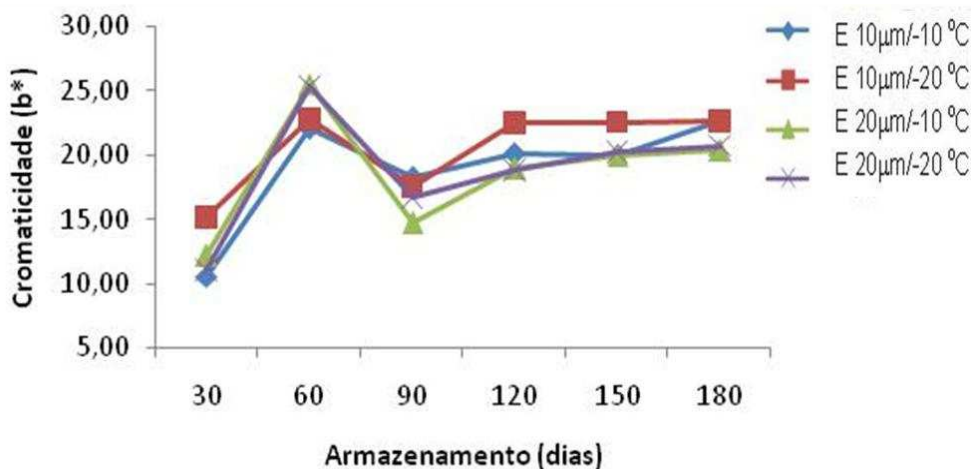


FIGURA 3 – CROMATICIDADE  $b^*$  PARA O PARÂMETRO COR VARIANDO DO AMARELO AO VERMELHO



### 3.5 TEXTURA

A Figura 4 apresenta uma curva típica de força-distância para amostras de *Physalis peruviana*, onde pode-se observar o ponto máximo de força de ruptura ( $F_r$ ) do fruto a uma determinada distância ( $D_r$ ). Até esse ponto ocorre uma relação crescente linear do esforço frente à deformação relacionada à resistência da película cerosa do fruto. Após a ruptura dessa força, é praticamente constante a deformação da polpa, conforme também observado por Restrepo, Cortés e Márquez (2009).

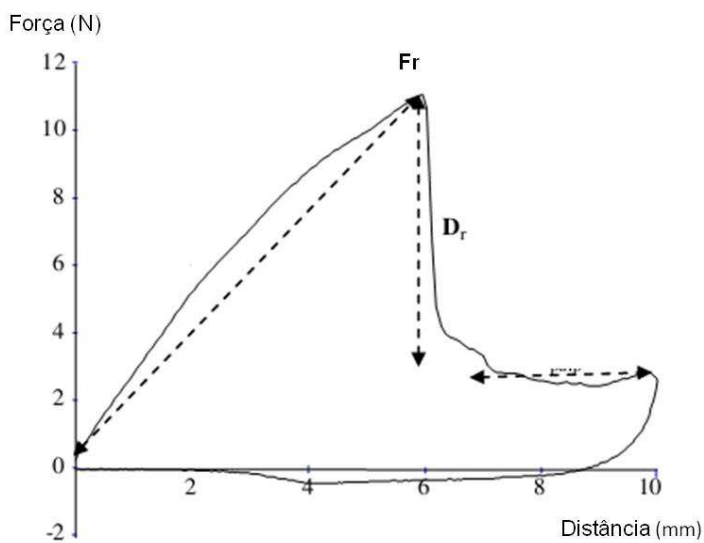


FIGURA 4 – CURVA TÍPICA FORÇA-DISTÂNCIA DE RUPTURA DO FRUTO *Physalis peruviana*

Os frutos “in natura” analisados apresentaram valor médio de 2,5 N para  $F_r$ , o necessário para romper a película cerosa do fruto. Ao comparar essa força com amostras congeladas, os valores médios variaram de 1,86 N no início para 2,02 N no final do congelamento, sem diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os períodos. O valor final de  $F_r$  menor que no fruto “in natura” possivelmente seja decorrente do rompimento das paredes celulares no fruto devido à formação de cristais de gelo expandido formados pelo congelamento lento que contribui para a perda da rigidez normal, assim como a perda de líquido intra-celular (RESENDE; CAL-VIDAL, 2002; CEBALLOS; GIRALDO; ORREGO, 2012), o que comprova a importância em se definir a temperatura ideal de congelamento para conservar o fruto, a fim de analisar o efeito da temperatura sobre as reações bioquímicas.

#### 4 CONCLUSÕES

Os frutos de *Physalis peruviana* acondicionados em filmes com espessura de 10 e 20  $\mu\text{m}$  em temperatura - 20 °C mantiveram a acidez total titulável ao longo de 180 dias. Em relação aos sólidos solúveis totais, houve uma tendência de aumento dos teores nas amostras embaladas no filme de 10  $\mu\text{m}$  a - 20 °C.

Conservou-se 73,31% em vitamina C, 81,10% dos fenóis totais, 44,23% da rutina, 30,76% da miricetina e 24,65% do kaempferol. Essas condições contribuem para conservar a qualidade do fruto favorecendo sua comercialização e reduzindo as possíveis perdas de pós-colheita.

Para os flavonóis rutina, miricetina e kaempferol observou-se maior tendência ao decréscimo desses compostos na temperatura de - 10 °C para ambas espessuras de embalagem.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, L. P.; FIGUEIREDO, R. W.; ALVES, R. E.; MAIA, G. A.; SOUZA, V. A. B. Caracterização física e físico-química de frutos de diferentes genótipos de bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28 p. 423 - 428, 2008.

AGUILAR, R. M; LOMELÍ, A. P.; GAYTÁN, E. L.; HERNÁNDEZ, J. J. A.; AGUIRRE, D. P. Agrofenologia de *Physalis peruviana* L. em invernadero y fertirriego. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v. 12, p. 57-63, 2006.

AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg, 2000.

BAHÇEÇI, K. S.; SERPEN, A.; GÖKMEN, V.; ACAR, J. Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 187-192, 2005.

BARRET REINA, L. C.; CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Choque a frio e atmosfera modificada no aumento da vida pós-colheita de tomate: I. Avaliação da qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.13, p.168-183, 1993.

BARTLEY, I. M.; KNEE, M. **The chemistry of textural changes in fruit during store**. Journal Food Chemistry, v. 9, p. 47-58, 1982.

BOLZAN, R. P.; CUQUEL, F. L.; LAVORANTI, O. J. Armazenamento refrigerado de *Physalis*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. especial, p. 577-583, 2011.

BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; OLIVEIRA, A. L. de. Avaliação das alterações em polpa de manga 'Tommy-Atkins' congeladas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 651-653, 2002.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. A. R.; BAZZO, F. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenam de jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg) cv 'Sabará. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 378 - 383, 2004.

CEBALLOS, A. M.; GIRALDO, G. I.; ORREGO, C. E. Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. **Journal of Food Engineering**, v. 1, p. 1 -10, 2012.

CODEX. Norma del Codex para la uchuva, México, 2005. (Codex Stan 226 2001). Acesso em: 28 fev. 2012.

CORTE-ELEUTÉRIO, R. M.; SALGADO, J. M. Estabilidade do ácido ascórbico em suco congelado de acerola (*Malpighia glabra* L. - sinônimo *M. Punicifolia* L.) durante o armazenamento. **Boletim Ceppa**, v. 15, p. 101-112, 1997.

EVANGELISTA, R. M.; VIEITES, R. L. Avaliação da qualidade de polpa de goiaba congelada, comercializada na cidade de São Paulo. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 13, p. 76 - 81, 2006.

FERREYRA, R. M.; VINÃ, S. Z.; MUGRID G. E. A.; CHAVES, A. R. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. **Scientia Horticulturae**, v. 112, p. 27-32, 2007.

FOLIN, C.; CIOCALTEU, V. Tyrosine and tryptophan determination in proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 23, p. 627 – 650, 1927.

GÖKMEN, V.; BAHÇECI, K. S. ; SERPEN, A.; ACAR, J. Study of lipo-xygenase and peroxidase as blanching indicator enzymes in peas: Change of enzyme activity, ascorbic acid and chlo -rophylls during frozen storage. **Food Scienc Technology**, v. 38, p. 903–908, 2005.

ICONTEC. Frutas fresca: Uchuva. especificaciones. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (**Norma técnica Colombiana, 4580**), 1999. 15 p.

LANCHERO, O.; VELANDIA, G.; FISCHER, G.; VARELA, N. C.; GARCIA, H. Comportamiento de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) em poscosecha bajo condiciones de atmósfera modificada activa. **Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 1, p. 61-68, 2007.

LICODIEDOFF, S.; RIBANI, R. H. Flavonóis e atividade antioxidante do fruto *Physalis peruviana* L. em dois estádios de maturação. **Acta Scientiarum**, Aceito para publicação em 2012.

LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. A.; MENEZES, H. C. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 553-559, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Ed. 1. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

MACHADO, S. S.; TAVARES J. T. Q.; CARDOSO, R. L.; MACHADO, C. S.; SOUZA, K. E. P. Caracterização de polpas de frutas tropicais congeladas comercializadas no Recôncavo Baiano. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 38, p. 158-163, 2007.

MACHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLIOT, J. **Changes and metabolism of phenolic compounds in fruits, in fruit phenolics**, ed. by Macheix, J. J., Fleuriet, A. Billiot, J. CRC Press, Boca Raton, 1990. p. 149–221.

MÉLO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, P. P. Temperatura no armazenamento de pitanga. **Scientia Agricola**, v. 57, p.629-634, 2000.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; ARAÚJO, C. R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, p. 67-72, 2008.

PEREIRA, T.; CARLOS, L. A.; OLIVEIRA, J. G.; MONTEIRO, A. R. Características físicas e químicas de goiaba cv. Cortibel (*Psidium guajava*) estocadas sob Refrigeração em filmes X-Tend. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, p. 11-16, 2005.

PEREIRA, J. M. A. T.; OLIVEIRA, K. A. M.; SOARES, N. F. F.; GONÇALVES, M. P. J. C.; PINTO, C. L. O.; FONTES, E. A. F. Avaliação da qualidade físico-química, microbiológica e microscópica de polpas de frutas congeladas comercializadas na cidade de Viçosa-MG. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, p. 437-442, 2006.

RAIMUNDO, K; MAGRI, R. S.; SIMIONATO, E. M. R. S.; SAMPAIO, A. C. Avaliação física e química da polpa de maracujá congelada comercializada na região de Bauru. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 539-543, 2009.

RESENDE, J. V.; CAL-VIDAL, J. Frutos de melão submetidos à pré-tratamentos com hidrocolóides: efeitos do processamento de congelamento sobre a microestrutura celular. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 295-304, 2002.

RESTREPO, A.; CORTÉS, M.; MÁRQUEZ, C. Uchuvas (*Physalis peruviana* L.) minimally processed fortified with vitamin E. **Vitae Revista de la Facultad de Química Farmaceutica**, v. 16, p. 19-30, 2009.

SAHARI, M. A.; BOOSTANI, F. M.; HAMIDI, E. Z. Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen *stramberry*. **Food Chemistry**, v. 86, p. 357-363, 2004.

SEVERO, J.; LIMA, C. S. M.; COELHO, M. T.; RUFATTO, A. R.; ROMBALDI, C. V.; SILVA, J. A. Atividade antioxidante e fitoquímicos em frutos de *Physalis* (*Physalis peruviana*, L.) durante o amadurecimento e o armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 16, p. 77- 82, 2010.

SILVA, G. B.; ROCHA, L. F.; AMARAL, F. H. C.; ANDRADE, M. L.; NETO, R. F.; CAVALCANT, I. H. L. Laranja-da-terra: fruta cítrica potencial para o Piauí. **Ciências Agrárias**, v. 31, p. 557-562, 2010.

SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do Estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, p. 330-334, 2001.

SILVA, V. K. L.; FIGUEIREDO, R. W.; BRITO, E. S.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, E. A. T. Estabilidade da polpa do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) congelada por 12 meses. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 1293-1300, 2010.

TOOR, R. K.; SAVAGE, G. P. Changes in major antioxidant components of tomatoes during post-harvest storage. **Food Chemistry**, v. 99, p. 724-727, 2006.

VALLILO, M. I.; GARBELOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A. Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, p. 241-244, 2005.

VELASQUEZ, H. J. C.; GIRALDO, O. H. B.; ARNGOS, S. A. P. Estudios preliminares de la resistencia mecánica a la fractura y fuerza de firmeza par fruta de uchuva (*Physalis peruviana* L.) **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v. 60, p. 3785 - 3796, 2007.

VERA, R.; NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. L.; CHAVES, L. J.; LEANDRO, W. M.; SOUZA, E. R. B. Caracterização física de frutos do pequiizeiro (*Caryocar brasiliens* e

Camb.) no Estado de Goiás . **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 2, p. 71-79, 2005.

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

## CAPÍTULO 5

### **ANÁLISE DE IMAGEM PARA MONITORAMENTO DA DILUIÇÃO DO SUCO DE *Physalis peruviana* “IN NATURA”**



## RESUMO

O fruto *Physalis peruviana* é um fruto exótico que tem despertado interesse por suas propriedades nutricionais, porém sua forma de distribuição limita a comercialização. O suco do fruto é consumido e apreciado para o consumo quando diluído. A análise de imagem representa uma técnica de destaque para classificação de alimentos. A análise de densidade e modelos lineares foi utilizado para o monitoramento da diluição do suco do fruto com concentração variando de 0% a 100% em massa. Uma amostra correspondente a 20% em massa foi usada para validar a técnica e predizer o modelo, cuja melhor predição foi de  $19,9 \pm 0,3$ . Os modelos com três parâmetros apresentaram o melhor ajuste o que atribui à técnica uma metodologia promissora para o monitoramento da diluição de sucos dos frutos.

**Palavras-chave:** Suco. Fruto. Cor. RGB.

## ABSTRACT

The *Physalis peruviana* fruit is an exotic fruit that has attracted great attention for its nutritional properties, but its marketing is limited by the way of distribution. The fruit juice is consumed and appreciated when diluted for consumption. Image analysis is a technique especially applied for food classification. The density analysis and linear models were used to monitor dilution of the fruit juice with a concentration ranging from 0% to 100% by weight. A sample corresponding to 20% by weight was used to validate the model and predict the art, the optimum prediction was  $19.9 \pm 0.3$ . Models with three parameters showed the best fit which gives the technique as promising methodology for monitoring the dilution of fruit juices.

**Key words:** Juice. Fruit. Color. RGB.

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* é uma frutífera que pertence à família Solanaceae, cuja ocorrência se dá em regiões temperadas, quentes e subtropicais de todo o mundo. As espécies comumente encontradas no Brasil são a *Physalis angulata* e *peruviana*, sendo o Rio Grande do Sul o principal produtor desses frutos “in natura” (AGRA; NURIT-SILVA; BERGER, 2009; PEIXOTO et al., 2010).

A inserção do fruto no mercado tem despertado o interesse de produtores de médio e grande porte, devido às suas propriedades nutricionais como os altos teores de substâncias antioxidantes e anticancerígenas que vêm aguçando o interesse do consumidor em busca da suplementação alimentar a partir da diversificação de uma alimentação à base de frutas (CHAVES; SCHUCH; ERIG, 2005).

A comercialização da *peruviana* tem seu maior consumo sob a forma “in natura” com ou sem cálice em embalagens cobertas com filme plástico com peso de aproximadamente 500 gramas. Porém, essa forma de distribuição limita vida de prateleira pela falta de estudos do fruto em suas diferentes operações de pós-colheita, fundamentais para manter a qualidade e prolongar a sua vida útil (LANCHERO et al., 2007). A industrialização do produto contribui com a diversidade e praticidade no consumo e a produção de sucos dos frutos é uma atividade promissora para o consumo dos frutos (SANCHO et al., 2007).

Os sucos dos frutos são consumidos e apreciados por serem fontes naturais de carboidratos, carotenoides, vitaminas, minerais e outros componentes importantes (SANDI et al., 2004; PINHEIRO et al., 2006; MOSQUEDA-MELGAR; RAYBAUDI-MASSILIA; MARTÍN-BELLOSO, 2011), que favorecem o seu consumo.

O preparo de bebidas pela diluição e adição de açúcar torna ainda mais prático o consumo desses sucos, os quais são comercializados em embalagens de poliestireno tereftalato, vidro de 250 mL, lata de 335 mL e cartonadas de 200 mL ou 1 L (CULLEN, 2003). Essas características induzem a indústria a padronizar a cor do suco que pode ser influenciada pela concentração, em especial os cítricos, por ser um atributo de classificação da qualidade (MARQUES; ATZINGEN; MACHADO PINTO e SILVA, 2004) e aceitabilidade de compra desses produtos (PACE et al.,

2011; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARO; HEREDIA, 2005; ULLOA et al., 2007; MELÉNDEZ-MELGAR et al., 2011).

Para analisar as propriedades do fruto, a indústria utiliza determinações de densidade, viscosidade, calor específico, condutividade térmica, espectrofotômetro para análise de DPPH, espectrofotômetro (BRADLEY, 1978; MOURA; FRANÇA; LEAL, 2005), eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato (PETR, 2011), GC-MS, entre outros, que além do alto custo requer certo tempo para resposta o que muitas vezes inviabiliza algumas análises (NITRA, 2011; PEREZ-CACHOPILAR; DANYLUK; ROUSEFF, 2011). A análise sensorial é outra metodologia adotada, no entanto requer um número elevado de variáveis e uma equipe treinada o que demanda muito tempo e custo, dificultando tal análise (GRANITTO et al., 2007).

O uso de imagens caracteriza uma técnica de grande valia para a área de alimentos (ZHENG; SUN; ZHENG, 2006) por se tratar de um procedimento de precisão/exatidão que não destrói a amostra em análise, o que confere à técnica uma vasta gama de aplicações, tornando possível analisar os elementos gráficos das imagens por meio de “pixels”, que diferenciam padrões e obtêm relações numéricas entre eles (LUPETTI et al., 2005; BLASCO et al., 2009). Constitui uma ferramenta de qualidade na classificação de frutas e legumes e controle no armazenamento desses e outros alimentos processados (PERERA et al., 2010; CUBERO et al., 2011). Fernandez-Vazquez et al. (2011) procuraram descobrir a correlação entre o instrumental e a avaliação sensorial em suco de laranja. Martinb et al. (2007) avaliaram a cor de diferentes vinhos utilizando uma equipe de oito observadores, tele-espectrorradiômetro e câmara digital e constataram que estes dois últimos concordam, mostrando que o método de medição digital sem contato pode fornecer resultados rápidos e precisos para descrever a aparência de cor de produtos alimentares líquidos como os vinhos estudados. Sendo assim, a análise de imagem segue como uma importante ferramenta para estudo e caracterização do suco do fruto concentrado e diluído. Portanto, este trabalho visa apresentar uma análise de diluição simples de baixo custo para o monitoramento da diluição do suco de *Physalis peruviana* “in natura”, utilizando análise de imagem juntamente com análises físico-químicas para prever a diluição por estimativa de parâmetros apropriados.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

Frutos de *Physalis peruviana*, cedidas pela empresa Italbraz<sup>®</sup> localizada na região de Vacaria-RS, foram transportadas sob refrigeração  $7,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e mantidas até o momento das análises.

As amostras foram separadas do cálice que as protege, selecionadas e pesadas para serem homogeneizadas em um multiprocessador de alimentos durante 3 min na velocidade 25.000 rpm em homogeneizador do sistema Polytron MR2100, Kinematica-AG (Luzern, Suíça).

Os dados experimentais com a composição do suco em percentagem encontram-se na Tabela 1. Uma alíquota do ensaio referente a 20% do suco também foi analisado e usado para validação do modelo. As amostras em questão foram pesadas em uma balança analítica (BioPrecisa, modelo: FA 2104N, precisão: 0,0001).

TABELA 1 – DILUIÇÕES UTILIZADAS PARA A CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO (EM FRAÇÃO MASSICA DO SUCO) DE *Physalis peruviana*

M0	M5	M10	M20	M35	M50	M60	M70	M80	M100
0	5	10	20	35	50	60	70	80	100

### 2.2 MÉTODOS

#### 2.2.1 Análise de Imagem

Cada amostra foi preparada separadamente em suas respectivas diluições e transferida para uma cubeta de poliestireno (Kartell SPA, Itália), com 0,1 m de caminho de luz e 4,5 mL de capacidade. Para evitar interferências ambientais e

ajustar a mesma espessura de fluido para cada uma das amostras, as cubetas foram acomodadas uma ao lado da outra dentro de uma câmara com fonte de luz para serem fotografadas com a máquina Olympus D-595 (5,0 Mega pixels), com zoom fixo em 1x e posicionada a 25 centímetros para fora da câmara, a fim de emoldurar todas as cubetas em uma fotografia única.

A imagem foi analisada e processada por um software multi-tarefa (FERNANDES et al., 2012). A caracterização da imagem da amostra ocorreu por meio do sistema de cores R, G e B correspondente a Red-Green-Blue (KHATCHATOURIAN; PADILHA, 2008) As amostras foram analisadas separadamente, onde retângulos contendo 16 mil pixels foram selecionados para a decomposição de cor em componentes R, G, B. O número de pixels é alto o suficiente para garantir a robustez do processo de análise de imagem e garantir baixas bandas e intervalos médios de confiança para cada componente de cor de cada amostra.

### 2.2.2 Análises físico-químicas

As amostras foram preparadas em suas distintas diluições e analisadas quanto ao teor de sólidos solúveis totais utilizando-se um refratômetro de bancada (RL3 – Polskie Zaklandy Optyczne S.A.), com escala de 0 a 90 °Brix, com resolução  $10^{-2}$  em °Brix. Para análise de densidade, utilizou-se um densímetro (marca ANTON – PARR – DMA 5000) com faixa de medição de 0 a 3 e resolução de  $10^{-6}$  g/cm<sup>3</sup>; a condutividade elétrica foi medida usando um condutivímetro (marca BUNKER) com faixa de medição de 0 a 1999 com resolução de  $10^{-1}$  μS/cm e a viscosidade do suco foi obtida utilizando o viscosímetro (Brookfield modelo RV-II+Pro), acoplado ao software Rheocalc versão V3.1-1 com resolução  $10^{-3}$  expresso mPa.s. Os resultados foram obtidos após a aquisição das fotografias. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

### 2.2.3 Análise dos parâmetros do suco concentrado e suas diluições

Para analisar as propriedades do suco concentrado e suas diluições, foram correlacionados os demais valores com o valor médio de R, G, B e componentes da análise de imagem. O ajuste dos dados experimentais do suco e suas diluições por cento, em massa, foi possível, considerando o método dos mínimos quadrados como função objeto, usando modelos com dependência linear dos parâmetros. Para estimação dos parâmetros, foi usado o método de Levenberg-Marquadt que utiliza um único critério de convergência dado por  $10^{-6}$  (LEVENBERG, 1944; MARQUADT, 1963), e o valor 1,0 para estimativa inicial devido à linearidade do problema. Testes de validação do modelo e cálculos de parâmetros de variância foram adotados utilizando o procedimento adotado por Isfer; Lenzi e Lenzi (2010).

É importante salientar que a amostra de teste contendo 20% em massa de suco foi utilizada apenas para validação do modelo e não para estimação de parâmetros. Isso porque a validação do modelo não só compreende a previsão do modelo, mas também o desvio padrão da sua previsão. Nesse sentido, apenas variância e covariância do parâmetro (FERNANDES et al., 2012) foram considerados, conseqüentemente, o desvio padrão da previsão do modelo é dada pela Equação (1).

$$S_{mass} = \sqrt{\sum_{i=1}^{NP} \left( \frac{\partial mass}{\partial ai} \right)^2 \cdot S_{ai}^2 + 2 \cdot \sum_{i=1}^{NP-1} \sum_{j=i+1}^{NP} \left( \frac{\partial mass}{\partial ai} \right) \cdot \left( \frac{\partial mass}{\partial aj} \right) \cdot S_{ai-aj}^2} \quad (\text{Equação 1})$$

onde: NP é o número de parâmetros;  $S_{ai}^2$  é o parâmetro variância **ai**;  $S_{ai-aj}^2$  é a covariância dos parâmetros **ai** e **aj**.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

As amostras de suco e suas respectivas diluições apresentam um notável gradiente de cor que varia da mais escura contendo 100% polpa, para mais clara com até 5% polpa, conforme a Tabela 1. O branco, amostra (M0), não contém polpa. A Figura 1 apresenta a imagem de suco utilizado.

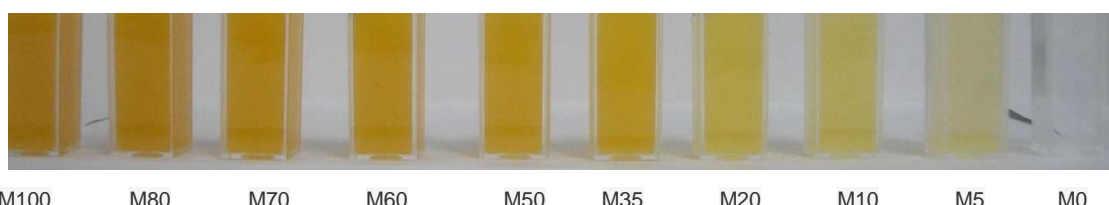


FIGURA 1 – GRADIENTE DE COR DO SUCO (M100 A M0) DE *Physalis peruviana*

Os valores da análise de imagem, assim como as respostas de condutividade, sólidos solúveis totais (SST), densidade (Dens.) e viscosidade (Visc.) são apresentados pelos valores médios e os respectivos desvios padrão da média, conforme as Tabelas 2 e 3.

TABELA 2 – PARÂMETROS DE COR (R, G, B) DO SUCO DE *Physalis peruviana*

MISTURA	R	G	B
<b>M0</b>	151,69 ± 0,03	154,70 ± 0,03	159,84 ± 0,03
<b>M5</b>	159,58 ± 0,02	156,95 ± 0,04	122,32 ± 0,03
<b>M10</b>	173,41 ± 0,02	156,99 ± 0,04	69,72 ± 0,03
<b>M35</b>	175,82 ± 0,02	141,54 ± 0,07	33,18 ± 0,02
<b>M50</b>	174,98 ± 0,03	137,90 ± 0,08	37,45 ± 0,03
<b>M60</b>	172,26 ± 0,03	131,01 ± 0,07	32,48 ± 0,03
<b>M70</b>	166,63 ± 0,03	124,28 ± 0,06	27,66 ± 0,03
<b>M80</b>	156,18 ± 0,03	113,18 ± 0,04	25,55 ± 0,03
<b>M100</b>	145,88 ± 0,03	104,40 ± 0,04	26,30 ± 0,03

Sistemas de cores R=Red; G=Green; B=Blue e M= Massa



TABELA 3 – RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DO SUCO DE *Physalis peruviana*

MISTURA	COND. ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	SST ( $^{\circ}\text{Brix}$ )	DENS. ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	VISC. (mPa.s)
<b>M0</b>	20,0 $\pm$ 0,1	0,00 $\pm$ 0,00	0,998169 $\pm$ 0,000003	2,155 $\pm$ 0,192
<b>M5</b>	662,9 $\pm$ 0,3	1,02 $\pm$ 0,02	1,001459 $\pm$ 0,000052	2,907 $\pm$ 0,569
<b>M10</b>	1213,0 $\pm$ 0,7	1,88 $\pm$ 0,07	1,005513 $\pm$ 0,000114	4,570 $\pm$ 0,971
<b>M20</b>	2185,0 $\pm$ 2,9	3,62 $\pm$ 0,07	1,012846 $\pm$ 0,000074	6,926 $\pm$ 1,738
<b>M35</b>	3377,5 $\pm$ 11,1	5,93 $\pm$ 0,09	1,023645 $\pm$ 0,000159	13,696 $\pm$ 3,124
<b>M50</b>	4422,5 $\pm$ 8,5	8,50 $\pm$ 0,06	1,035809 $\pm$ 0,000028	21,170 $\pm$ 3,853
<b>M60</b>	5472,5 $\pm$ 27,5	10,53 $\pm$ 0,03	1,043566 $\pm$ 0,000154	25,032 $\pm$ 7,079
<b>M70</b>	5542,5 $\pm$ 11,8	12,23 $\pm$ 0,09	1,052325 $\pm$ 0,000777	43,263 $\pm$ 9,219
<b>M80</b>	5645,0 $\pm$ 19,4	13,80 $\pm$ 0,12	1,058767 $\pm$ 0,000051	86,987 $\pm$ 16,272
<b>M100</b>	5915,0 $\pm$ 23,3	16,93 $\pm$ 0,09	1,075062 $\pm$ 0,000396	239,632 $\pm$ 22,656

Sistemas de cores R=Red; G=Green; B=Blue e M= Massa

A Tabela 4 apresenta os dados da caracterização da amostra contendo 20% de massa de suco de *Physalis peruviana* utilizado para a validação dos modelos. Porém esses dados não foram considerados para estimar os parâmetros do modelo.

TABELA 4 – CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA – 20% MASSA DE SUCO DE *Physalis peruviana*

MISTURA	R	G	B	COND. ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	SST ( $^{\circ}\text{Brix}$ )	DENS. ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	VISC. (mPa.s)
<b>M20</b>	173,40 $\pm$ 0,02	156,91 $\pm$ 0,04	69,11 $\pm$ 0,02	2185,0 $\pm$ 2,9	3,62 $\pm$ 0,07	1,012846 $\pm$ 0,000074	6,926 $\pm$ 1,738

Sistemas de cores R=Red; G=Green; B=Blue e M= Massa

Para análise dos resultados, os modelos foram divididos em classes segundo o número de parâmetros, cujos melhores ajustes se deram com 3 e 4 parâmetros como pode ser constatado na Tabela 5. Essa quantidade foi definida com o intuito de evitar sobreparametrização e possível ajuste de erros experimentais. O modelo que apresentar o menor valor da função objetivo, dentro de uma classe de modelos com parâmetros cujos valores são mais elevados do que o desvio padrão. A Figura 2 mostra o gráfico de resíduos, onde se observa que o modelo com menor valor da função objetivo P4M1 apresentou menores resíduos para a maioria dos dados experimentais como o esperado.

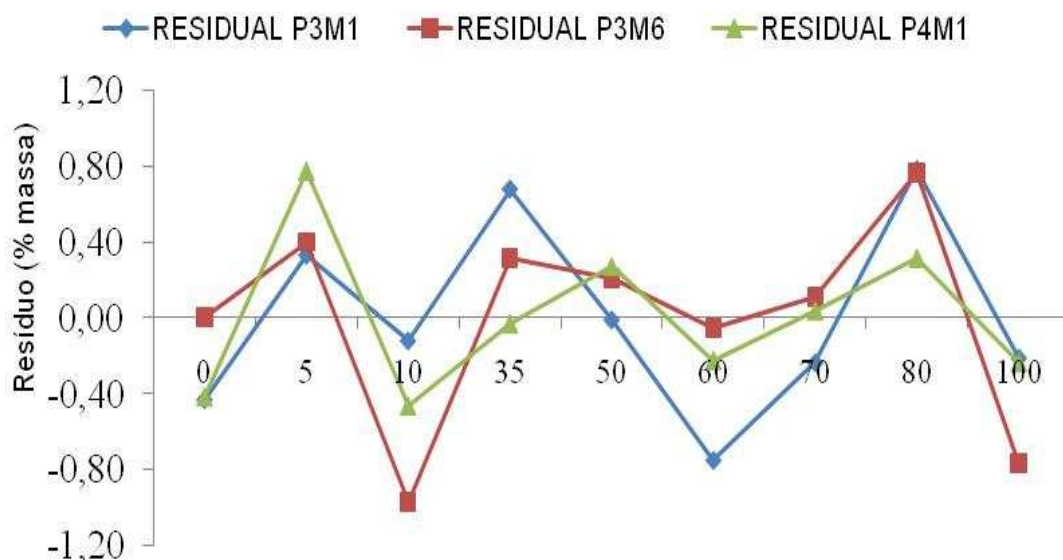


FIGURA 2 – VALORES RESIDUAIS DO MODELO PREDITO PARA O SUCO 0% - 100% DE *Physalis peruviana*

Apesar de diversos modelos lineares serem formados por meio das diferentes combinações das medidas das Tabelas 2 e 3, neste estudo foram usados modelos que possuem consistência paramétrica, ou seja, o valor estimado para o parâmetro é maior do que seu respectivo padrão, como o ocorrido com Ochoa Martínez et al. (2004), ao predizerem o modelo matemático para a mistura pimenta jalapeño.

TABELA 5 – RESUMO DOS MODELOS – FAIXA DE CONCENTRAÇÃO DE 0% - 100% EM MASSA DE SUCO DE *Physalis peruviana*

Parâmetros	Modelos		
	<b>massa = a0+a1·cond+a2·dens</b>		
	Função Objetivo: 2,0	R = 0,999	
	Parâmetros	Parâmetros Covariância	
3.1	a0 = (-121,0 ± 2,6)·10 <sup>+1</sup>	(a0-a1) = +7,50·10 <sup>-3</sup>	
	a1 = (+10,9 ± 3,0)·10 <sup>-4</sup>	(a0-a2) = -6,82·10 <sup>+2</sup>	
	a2 = (+ 121,3 ± 2,6)·10 <sup>+1</sup>	(a1-a2) = -7,59·10 <sup>-3</sup>	
	<b>mass = a0+a1·visc+a2·dens</b>		
	Função Objetivo: 2,5	R = 0,999	
	Parâmetros	Parâmetros Covariância	
3.2	a0 = (-133,2 ± 1,3)·10 <sup>+1</sup>	(a0-a1) = +4,52·10 <sup>-2</sup>	
	a1 = (-13,3 ± 4,2)·10 <sup>-3</sup>	(a0-a2) = -1,82·10 <sup>+2</sup>	
	a2 = (+133,6 ± 1,3)·10 <sup>+1</sup>	(a1-a2) = -4,47·10 <sup>-2</sup>	
	<b>massa = a0+a1·dens+a2·R</b>		
	Função Objetivo: 2,6	R = 0,999	
	Parâmetros	Parâmetros Covariância	
3.3	a0 = (-131,7 ± 1,1)·10 <sup>+1</sup>	(a0-a1) = -8,85·10 <sup>+1</sup>	
	a1 = (+ 131,0 ± 0,9)·10 <sup>+1</sup>	(a0-a2) = -1,27·10 <sup>-1</sup>	
	a2 = (+6,5 ± 2,2)·10 <sup>-2</sup>	(a1-a2) = +4,88·10 <sup>-2</sup>	
	<b>massa = a0+a1·dens+a2·sst</b>		
	Função Objetivo: 2,8	R = 0,999	
	Parâmetros	Parâmetros Covariância	
3.4	a0 = (-6,4 ± 1,9)·10 <sup>+2</sup>	(a0-a1) = -3,99·10 <sup>+4</sup>	
	a1 = (+6,5 ± 2,0)·10 <sup>+2</sup>	(a0-a2) = +1,79·10 <sup>+2</sup>	
	a2 = (+29,6 ± 9,0)·10 <sup>-1</sup>	(a1-a2) = -1,80·10 <sup>+2</sup>	
	<b>massa = a0+a1·R+a2·cond</b>		
	Função Objetivo: 2,7	R = 0,999	
	Parâmetros	Parâmetros Covariância	
3.5	a0 = (- 3,5 ± 2,8)·10 <sup>-1</sup>	(a0-a1) = +8,25·10 <sup>-4</sup>	
	a1 = (+ 10,1 ± 5,0)·10 <sup>-3</sup>	(a0-a2) = - 2,59·10 <sup>-2</sup>	
	a2 = (+ 57,5 ± 0,7)·10 <sup>-1</sup>	(a1-a2) = - 2,74·10 <sup>-4</sup>	
	<b>massa =a0+a1·B+a2·dens</b>		
	Função Objetivo: 2,4	R = 0,999	
	Parâmetros	Parâmetros Covariância	
3.6	a0 = (-126,1 ± 1,5)·10 <sup>+1</sup>	(a0-a1) = -9,53·10 <sup>-2</sup>	
	a1 = (-24,7 ± 7,8)·10 <sup>-3</sup>	(a0-a2) = - 2,09·10 <sup>+2</sup>	
	a2 = (+126,7 ± 1,4)·10 <sup>+1</sup>	(a1-a2) = + 8,88·10 <sup>-2</sup>	
	<b>massa = a0+a1·R+a2· G+a3·dens</b>		
	Função Objetivo: 1,3	R = 0,999	
	Parâmetros	Parâmetros Covariância	
4.1	a0 = (-115,1 ± 7,3)·10 <sup>+1</sup>	(a0-a1) = +1,46·10 <sup>0</sup>	(a1-a2) = -1,95·10 <sup>+3</sup>
	a1 = (+11,3 ± 2,7)·10 <sup>-2</sup>	(a0-a2) = -6,68·10 <sup>0</sup>	(a1-a3) = -1,27·10 <sup>0</sup>
	a2 = (-21,0 ± 9,2)·10 <sup>-2</sup>	(a0-a3) = -4,54·10 <sup>+3</sup>	(a2-a3) = +5,67·10 <sup>0</sup>
	a3 = (+116,9 ± 6,2)·10 <sup>+1</sup>		

Ao comparar os modelos 3.1, 3.2 e 3.4, constatou-se que eles utilizam o parâmetro densidade aliado à condutividade, viscosidade e sólidos solúveis totais para obter uma considerável previsão e desvio padrão do modelo.

Ao avaliar os modelos 3.3, 3.5, 3.6 e 4.1, percebeu-se que a densidade quando aliada ao uso da câmera digital melhora o ajuste dos dados experimentais, em especial o 3.6 e 4.1. Sendo assim, é possível averiguar que apesar da robustez do equipamento, a câmera fotográfica apresenta bons resultados com número menor de parâmetros.

Ao se analisar esses dados, pode-se constatar que o uso da análise de imagem e densidade contribui para a predição da composição e estão presentes nos modelos com três e quatro parâmetros. No entanto, ao considerar um número maior de parâmetros, tem-se uma diminuição na qualidade do modelo, que por sua vez resulta em previsões pobres. Com essas informações, verifica-se que a análise de imagem é uma ferramenta de grande valia no desenvolvimento de sensores online para o monitoramento da diluição do suco de *Physalis* "in natura". A estimação dos parâmetros pode-se tornar ainda melhor se for adotado um número maior de amostras, pois o intervalo utilizado foi de 10% a 20%.

Para calcular a previsão do modelo e desvio padrão, basta utilizar os valores citados no modelo apresentado na Tabela 5 e aplicar na Equação 1, para obter os resultados apresentados na Figura 3.

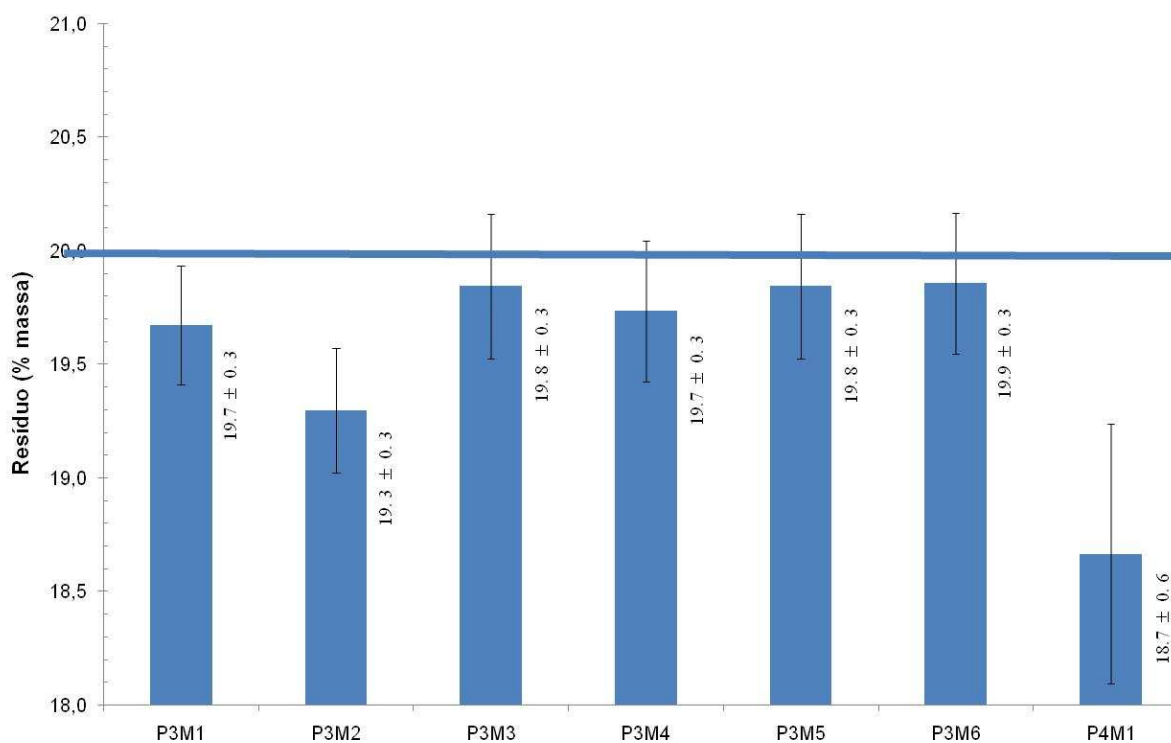


FIGURA 3 – PREDIÇÃO DO PERCENTUAL DE MASSA DE MODELOS ESTIMADOS

Ao ser analisado os modelos 3.6 (P3M6) e 4.1 (P4M1), pode-se verificar que o melhor ajuste e a menor função objetivo, respectivamente, são inversamente proporcionais ao número de parâmetros. Dessa forma, o resultado das análises físico-químicas quando acoplados à imagem contribui com o monitoramento da diluição do suco, assim como para a classificação de refrigerantes, conforme relatado por Godinho et al. (2008).

#### 4 CONCLUSÃO

O monitoramento da diluição é uma tarefa importante e pode ser feito considerando-se análises típicas como o sólidos solúveis totais, densidade, viscosidade e condutividade, além da análise de imagem, considerando os componentes R, G e B.

Os modelos lineares foram desenvolvidos e podem prever a diluição do suco de *Physalis peruviana* "in natura". O melhor desempenho e erro de predição foram obtidos com o modelo contendo três parâmetros que utiliza a análise de imagem, para a amostra de 20%, conforme predição de  $19,9 \pm 0,3$ . Assim, o monitoramento por imagem é uma técnica viável por se tratar de uma câmara digital que utiliza programas computacionais de fácil acesso.

## REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, L. R. Flora da Paraíba, Brasil: Solanum L. (Solanaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 826-842, 2009.

BLASCO, J.; CUBERO, S.; GOMEZ-SANCHIS, J.; MIRA, P.; MOLTO, E. Development of a machine for the automatic sorting of pomegranate (*Punicagranatum*) arils based on computer vision. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 27-34, 2009.

BRADLEY, A. E. Orange juice color measurement using general purpose tristimulus colorimeters. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 428-430, 1978.

CHAVES, A. C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 1281-1287, 2005.

CUBERO, S.; ALEIXOS, N.; MOLTO, E.; GOMEZ-SANCHIS, J.; BLASCO, J. Advances in machine vision applications for automatic inspection and quality evaluation of fruits and vegetables. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 487-504, 2011.

CULLEN, K. W.; BARANOWSK, T.; OWENS, E.; MARSH, T.; RITTENBERRY, L.; C. Availability, accessibility, and preferences for fruit, 100% fruit juice, and vegetables influence children's dietary behavior. **Health Education Behavior**, v. 30, p. 615-626, 2003.

FERNANDES, J. K.; UMEBARA, T., LENZI, M. K.; ALVES, E. T. S. Image analysis for composition monitoring commercial blends of olive and soybean oil. **Acta Scientiarum**, Aceito para publicação em 2012.

FERNANDEZ-VAZQUEZ, R.; STINCO, C.M.; MELENDEZ-MARTINEZ, A. J.; HEREDIA, F. J.; VICARIO, I. M. Visual and instrumental evaluation of orange juice color: a consumers' preference study. **Journal of Sensory Studies**, v. 26, p. 436-444, 2011.

GODINHO, M. S.; PEREIRA, R. O.; RIBEIRO, K. O.; SCHIMIDT, F.; OLIVEIRA, A. E. Classificação de refrigerantes através de análise de imagens e análise de componentes principais (PCA). **Química Nova**, v. 31, p. 1485-1489, 2008.

GRANITTO, P. M.; GASPERI, F.; BIASIOLI, F.; TRAINOTTI, E.; FURLANELLO, C. Modern data mining tools in descriptive sensory analysis: A case study with a Random forest approach. **Food Quality and Preference**, v. 18, p. 681-689, 2007.

ISFER, L. A. D; LENZI, M. K.; LENZI, E. K. Identification of biochemical reactors using fractional differential equations. **Latin American Applied Research**, v. 40, p. 193-198, 2010.

KHATCHATOURIAN, O.; PADILHA, F. R. R. Reconhecimento de variedades de soja por meio do processamento de imagens digitais usando redes neurais artificiais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, v. 28, p. 759-769, 2008.

LANCHERO, O.; VELANDIA, G.; FISCHER, G.; VARELA, N. C.; GARCIA, H. Comportamiento de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) em poscosecha bajo condiciones de atmósfera modificada activa. **Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 1, p. 61-68, 2007.

LEVENBERG, K. A method for the solution of certain problems in least squares. **Quarterly Journal of Applied Mathematics**, v. 2, p. 164-168, 1944.

LUPETTI, K. O.; CARVALHO, L. C.; MOURA, A. F.; FATIBELLO-FILHO, O. Análise de imagem em química analítica: empregando metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. **Química Nova**, v. 28, p. 548-554, 2005.

MARQUARDT, D. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. **SIAM Journal of Society for Industrial and Applied Mathematics**, v. 11, p. 431-441, 1963.

MARQUES, R. M. B.; ATZINGEN, M. C. V.; MACHADO PINTO E SILVA, M. E. Análisis sensorial y ácido ascórbico de hortalizas em fresco y ultracongeladas. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 4, p. 240-245, 2004.

MARTINB, M. L. G.; J. I, W.; LUOA, R.; HUTCHINGSA, J.; J. HEREDIA, F. J. Measuring colour appearance of red wines. **Food Quality and Preference**, v. 18, p. 862-871, 2007.

MELÉNDEZ-MELGAR, A. J.; GÓMEZ-ROBLEDO, L.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Color of orange juices in relation to their carotenoid contents as



assessed from different spectroscopic data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 837-844, 2011.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARO, I. M.; HEREDIA, F. J. C. Correlation between visual and instrumental colour measurements of orange juice dilutions: effect of the background. **Food Quality and Preference**, v. 16, p. 471-478, 2005.

MOSQUEDA-MELGAR, J.; RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Microbiological shelf life and sensory evaluation of fruit juices treated by high-intensity pulsed electric fields and antimicrobials. **Food and Bioprocess Processing**, v. 54, p. 1-10, 2011.

MOURA, S. C. S. R.; FRANÇA, V. C. L.; LEAL, A. M. C. B. Propriedades termofísicas de soluções-modelo similares a suco – Parte II. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 454-459, 2005.

NITRA, N.; SAOWANIT, B.; PLUBPLUENG, T. Rapid Screening of Antioxidant Compounds in Homemade Fruit Fermented Juice Using an On Line LC-ESI-MS/MS and DPPH Assay. **Chiang Mai Journal of Science**, v. 38, p. 430-438, 2011.

OCHOA MARTÍNEZ, L. A.; GALLEGOS INFANTE, J. A.; MORALES CASTRO, J.; MEDRANO ROLDÁN, H.; ROCHA GUZMÁN, N. E. Mathematical model for prediction of moisture content in Jalapeño Pepper (*Capsicum frutescens*). **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 4, p. 154-157, 2004.

PACE, B.; CEFOLA, M.; RENNA, F.; ATTOLICO, G. Relationship between visual appearance and browning as evaluated by image analysis and chemical traits in fresh-cut nectarines. **Postharvest Biology and Technology**, v. 61, p. 178-183, 2011.

PEIXOTO, N.; PEIXOTO, F.C.; VAZ, U. L.; NERI, S.C.M.; MONTEIRO, J. G. Adubação orgânica e cobertura do solo no crescimento e produção de camapu. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 370-372, 2010.

PERERA, N.; GAMAGE, T. V.; WAKELING, L.; GAMLATH, G. G. S.; VERSTEEG, C. Colour and texture of apples high pressure processed in pineapple juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, p. 39-46, 2010.

PEREZ-CACHOPILAR, R.; DANYLUK, M. D.; ROUSEFF, R. GC-MS quantification and sensory thresholds of guaiacol in orange juice and its correlation with *Alicyclobacillus* spp. **Food Chemistry**, v. 129, p. 45-50, 2011.

PETR, T.; KLARA, M.; EVA, S.; Rapid monitoring of mono- and disaccharides in drinks, foodstuffs and foodstuff additives by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 698, p. 1-5, 2011.

PINHEIRO, A. M.; FERNANDES, A. G.; FAI, A. E. C.; PRADO, G. M.; SOUSA, P. H. M.; MAIA, G. A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 98-103, 2006.

SANCHO, S. O.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W.; RODRIGUES, S.; SOUSA, P. H. M. S. Alterações químicas e físico-químicas no processamento de suco de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 878-882, 2007.

SANDI, D.; CHAVES, J. B. P.; SOUSA, A. C. G.; PARREIRAS, J. F. M.; SILVA, M. T. C.; CONSTANT, P. B. L. Hunter color dimensions, sugar content and volatile compounds in pasteurized yellow passion fruit juice (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) during storage. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, p. 233-245, 2004.

ULLOA, J. A.; ULLOA, P. R.; FLORES, J. R.; RANGEL, B. E. U.; ESCALONA, H. Comportamiento del color em bulbos del fruto de la jaca (*Artocarpus Heterophyllus*) auto estabilizados en frascos de vidrio por la tecnología de obstáculos. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 5, p. 372-378, 2007.

ZHENG, C. X.; SUN, D. W.; ZHENG, L. Y. Recent applications of image texture for evaluation of food qualities - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 3, p. 113-128, 2006.

## CONCLUSÕES GERAIS

1. Estudando os frutos *Physalis peruviana* que foram classificados em verde-amarelo (início da maturação) e laranja (final da maturação) segundo as Normas Técnicas Colombianas, o maior teor de rutina encontrado foi para o fruto laranja de tamanho pequeno com valor de  $6,90 \mu\text{g. g}^{-1}$  seguido da miricetina com  $1,31 \mu\text{g. g}^{-1}$  para o fruto grande no início da maturação, observando-se que o tamanho do fruto e o grau de maturação têm influência no teor desses compostos fenólicos.
2. Entre os flavonóis pesquisados, o fruto não apresenta quercetina em seus distintos estádios de maturação e tamanhos.
3. A melhor resolução na análise de flavonóis por CLAE foi obtida com a coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 3  $\mu\text{m}$ ) e fase móvel de água e metanol acidificados com 0,45% de ácido fórmico em gradiente linear.
4. O delineamento DCCR auxiliou na otimização da extração e hidrólise dos flavonóis, e a Análise de Superfície de Resposta auxiliou na definição da concentração de 8 mol. L<sup>-1</sup> de HCl e 90 minutos para atingir as condições ideais de extração e hidrólise em *Physalis peruviana*, baseado no flavonol com maior teor, a rutina.
5. Aplicando a metodologia de otimização da extração e hidrólise dos flavonóis obteve-se o conteúdo de  $78,64 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  de rutina;  $4,67 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  de miricetina e  $2,38 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  de kaempferol para *Physalis peruviana*-RS. Para *Physalis peruviana*-PR "in natura", obteve-se o teor de  $22,36 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  de rutina;  $0,99 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  de miricetina e  $1,35 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  de kaempferol. No cálice, foi obtida  $14,34 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  para a rutina;  $0,63 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  para a miricetina e  $1,10 \mu\text{g. } 100 \text{ g}^{-1}$  para o kaempferol.

6. Os frutos acondicionados em filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) com espessura de 10 e 20  $\mu\text{m}$  na temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  mantiveram o teor da acidez total titulável ao longo do armazenamento, conservando 73,31% da vitamina C, 81,10% de fenóis totais e 44,23% de rutina, contribuindo para conservar a qualidade do fruto. Apesar de não inativar as enzimas pelo período de 180 dias, ainda preserva alto percentual dos compostos bioativos.
7. O monitoramento da diluição do suco obtido pela polpa de *Physalis* ocorreu através das análises físico-químicas, constatando-se que a análise de imagem da cor é uma técnica viável e de fácil controle.
8. Os modelos lineares com melhor desempenho e erro de predição foram obtidos com três parâmetros utilizando a análise de imagem para suco de *Physalis* “in natura”.