

Ministério da Educação
Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de
Goiás.
Campus Anápolis

Curso de Licenciatura em Química

Quantificação Espectrofotométrica de Flavonoides na casca da Uva Niágara Rosada (*Vitis labrusca* L.)

Autor: Eduardo Ferreira Alves

Orientadora: Prof.^a Dra. Rejane Dias Pereira Mota

Anápolis

2023

EDUARDO FERREIRA ALVES

Quantificação Espectrofotométrica de Flavonoides na casca da Uva Niágara Rosada (*Vitis labrusca* L.)

Trabalho de conclusão do Curso de
Licenciatura em Química, apresentado à
Coordenação de Licenciatura em Química do
Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia de Goiás.

Orientadora: Prof.^a Dra. Rejane Dias Pereira
Mota.

ANÁPOLIS
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Alves, Eduardo Ferreira

A474q Quantificação espectrofotométrica de flavonoides na casca da uva
niágara rosada (*Vitis labrusca* L.). / Eduardo Ferreira Alves. – Anápolis:
IFG, 2023.
34 f. il. color.

Orientadora: Prof. Dra. Rejane Dias Pereira Mota.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia de Goiás: Campus Anápolis – Licenciatura em
Química, 2023.

1. Rutina. 2. fitoquímicos. 3.uva. 4. anti-inflamatórias.
5. antioxidantes.

I. Mota, Rejane Dias Pereira (orient.).

II. Título

CDD 540

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAÇÃO
NO REPOSITÓRIO DIGITAL DO IFG - ReDi IFG**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Digital (ReDi IFG), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IFG.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| ☐ Tese | ☐ Artigo Científico |
| ☐ Dissertação | ☐ Capítulo de Livro |
| ☐ Monografia – Especialização | ☐ Livro |
| ☒ TCC - Graduação | ☐ Trabalho Apresentado em Evento |
| ☐ Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Eduardo Ferreira Alves

Matrícula: 20201060020253

Título do Trabalho: Quantificação Espectrofotométrica de Flavonoides na casca da Uva Niágara Rosada (*Vitis labrusca* L.)

Autorização - Marque uma das opções

- ☒ Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso aberto);
- ☐ Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG somente após a data ____/____/____ (Embargo);
- ☐ Não autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso restrito).

Ao indicar a opção **2 ou 3**, marque a justificativa:

- ☐ O documento está sujeito a registro de patente.
☐ O documento pode vir a ser publicado como livro, capítulo de livro ou artigo.
☐ Outra justificativa: _____

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Anápolis, 11 de dezembro de 2023.

Eduardo Ferreira Alves

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

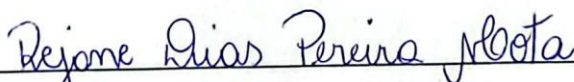
EDUARDO FERREIRA ALVES

**Quantificação Espectrofotométrica de Flavonoides na casca da Uva Niágara Rosada
(*Vitis labrusca* L.)**

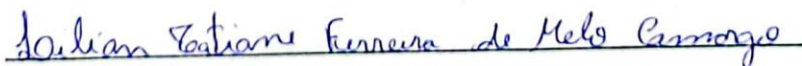
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Química do Instituto Federal de Goiás
– IFG – Câmpus Anápolis, como parte das exigências
do curso de Licenciatura em Química para obtenção do
título de licenciado em Química.

Área de concentração: Química Analítica

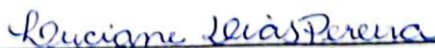
Aprovado em 11 de dezembro de 2023.



Prof.(a). Orientador(a) Dra. Rejane Dias Pereira Mota
IFG – Câmpus Anápolis



Prof.(a). Dra. Lilian Tatiane Ferreira de Melo Camargo
IFG – Câmpus Anápolis



Prof.(a). Prof.(a). Dra. Luciane Dias Pereira.
IFG – Câmpus Anápolis

Anápolis - Goiás - Brasil
Dezembro - 2023

RESUMO

Diversos problemas de saúde estão associados a processos inflamatórios no organismo humano. Atualmente, medicamentos anti-inflamatórios são utilizados para inibir a progressão da inflamação, porém eles frequentemente apresentam efeitos colaterais indesejáveis. Diante dessa problemática, métodos fitoquímicos têm sido considerados como alternativas, devido à presença de substâncias anti-inflamatórias em plantas. As frutas, incluindo a uva, possuem propriedades fitoquímicas relevantes. A uva é consumida há milhares de anos e, recentemente, foram descobertos benefícios relacionados à ingestão da casca da fruta. A casca e as sementes da uva contêm flavonoides, ácidos fenólicos e resveratrol, que apresentam atividades antioxidantes. Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar a quantidade de flavonoides presentes na casca da uva Niágara Rosada (*Vitis labrusca L.*). O estudo foi conduzido como uma pesquisa experimental, empregando a quantificação espectrofotométrica na faixa do espectro UV/Visível, com um comprimento de onda de 420 nm, para a determinação quantitativa de flavonoides, sendo a rutina utilizada como padrão de referência. Como resultado, foram obtidos 78,5 mg de flavonoides totais expressos em rutina, por cada 100 gramas de casca de uva. Esse valor mostrou-se semelhante aos estudos de Abe et al. (2007) e Castilhos (2011). Esses resultados destacam a importância do consumo da casca da uva in natura, devido aos benefícios dos flavonoides presentes, e ainda fornecem contribuições significativas para pesquisas futuras e aplicações práticas relacionadas à valorização desses compostos bioativos tanto na indústria como na melhoria da saúde.

Palavras-chaves: Rutina; Fitoquímicos; Uva; Anti-inflamatórias; Antioxidantes.

ABSTRACT

Various health problems are associated with inflammatory processes in the human body. Currently, anti-inflammatory medications are used to inhibit the progression of inflammation, yet they often come with undesirable side effects. Given this issue, phytochemical methods have been considered as alternatives due to the presence of anti-inflammatory substances in plants. Fruits, including grapes, possess relevant phytochemical properties. Grapes have been consumed for thousands of years, and recently, benefits related to consuming the fruit peel have been discovered. The peel and seeds of grapes contain flavonoids, phenolic acids, and resveratrol, which exhibit antioxidant activities. Therefore, the aim of this study was to determine the quantity of flavonoids present in the peel of Niagara Rosada grapes (*Vitis labrusca* L.). The study was conducted as an experimental research, employing spectrophotometric quantification in the UV/Visible spectrum range, with a wavelength of 420 nm, for the quantitative determination of flavonoids, using rutin as the reference standard. As a result, 78.5 mg of total flavonoids expressed in rutin were obtained per 100 grams of grape peel. This value was found to be similar to the studies by Abe et al (2007) and Castilhos (2011). These findings highlight the importance of consuming grape peel in its natural form due to the benefits of the present flavonoids, while also providing significant contributions for future research and practical applications related to the valorization of these bioactive compounds, both in the industry and in improving health.

Keywords: Rutin; Phytochemicals; Grape; Anti-inflammatory; Antioxidants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cruzamento das uvas Concord e Cassady.	14
Figura 2 - Anatomia da uva.	15
Figura 3 - Estrutura química de (A) não-flavonoides e (B) flavonoides.	16
Figura 4 - Estrutura básica dos flavonoides.....	17
Figura 5 - Diferentes subclasses dos flavonoides.	18
Figura 6 - Frutas e suas variedades de flavonoides.	19
Figura 7 - Estrutura da rutina.	20
Figura 8 - Curva de calibração da rutina.	26
Figura 9 - Pesagem da amostra.	27
Figura 10 - Amostra na chapa aquecedora.	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de concentração e absorvância de cada padrão de rutina.26

Tabela 2: Valores de absorvância e concentração de flavonoides na amostra.28

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Valores de concentração e volumes da solução de rotina.	24
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo Geral	13
2.2. Objetivos Específicos	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. Uva Niágara Rosada (<i>Vitis labrusca</i> L.).....	14
3.2. Compostos Fenólicos	16
3.2.1. Flavonoides.....	17
3.2.2. Rutina	19
3.3. Benefícios dos flavonoides na uva e seus derivados	20
3.4. Espectrofotometria UV/Visível.....	21
4. METODOLOGIA.....	23
4.1. Obtenção das amostras	23
4.2. Preparo da solução padrão de rutina.....	23
4.3. Preparo da curva de calibração	24
4.4. Preparo da amostra e quantificação no espectrofotômetro.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1. Curva de calibração no espectrofotômetro.....	26
5.2. Extração e quantificação de flavonoides na casca da uva.....	27
6. CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31
ANEXOS.....	34

1. INTRODUÇÃO

Inúmeros problemas de saúde estão relacionados com processos inflamatórios, como por exemplo: tendinites, infecções respiratórias, asma e doenças autoimunes. E na rotina diária das pessoas, quando lhe é apresentado algum desses problemas inflamatórios, acaba-se recorrendo a um fármaco que contém um princípio ativo capaz de inibir o progresso dessa inflamação. Os fármacos anti-inflamatórios são capazes de impedirem o transporte de células do sistema imunológico para a região lesionada, desse modo atuam reduzindo a inflamação (COUTINHO et al., 2009).

No entanto, essas substâncias medicamentosas manifestam um grau de toxicidade significativo, restringindo assim sua utilização, dessa forma, abre caminho para a realização do tratamento através de métodos fitoquímicos (COUTINHO et al., 2009).

A procura por plantas medicinais tem como objetivo: prevenir, curar e até mesmo minimizar os sintomas causados pelas doenças. São utilizadas como uma alternativa aos medicamentos atuais, cujos os custos elevados estão ligados às patentes vinculadas às pesquisas realizadas (BUFFON; MIGUEL, 2003). As frutas também possuem compostos fitoquímicos, como a laranja, a maçã, a tangerina e a uva (SILVA et al., 2015).

A prática do consumo de uva ocorre a aproximadamente 8 mil anos atrás, com evidências de que os gregos e árabes eram os principais apreciadores dessa fruta (MENEZES, 2021). Entretanto, até recentemente, possuía-se poucos conhecimentos acerca dos benefícios associados à ingestão da uva, especialmente em relação à sua casca.

No entanto, com os avanços da ciência foi possível identificar compostos presentes na uva que traziam melhorias a saúde. E um desses compostos são os flavonoides, eles estão presentes nos vegetais e possuem estruturas fenólicas variáveis e com capacidade anti-inflamatória, além disso, podem ser encontrados em flores, raízes, frutas, vegetais, sementes, grãos, cascas, chás e vinhos (NIJVELDT et al., 2001).

Nas sementes e na casca da uva é possível encontrar os seguintes flavonoides: catequina, epicatequina, procianidinas e antocianinas, além de ácidos fenólicos e resveratrol, que mostraram conter atividades funcionais em benefícios a saúde (SOARES et al., 2008).

Neste sentido, é possível entender a importância dos métodos fitoquímicos na farmacologia, pois a presença de substâncias anti-inflamatórias, como os flavonoides encontrados na casca da uva, proporciona inúmeros benefícios para a saúde. Diante dessas considerações, o presente estudo se propõe a investigar a concentração de flavonoides totais contidos na casca da uva Niágara Rosada (*Vitis labrusca* L.) utilizando o método de espectrofotometria UV/Visível.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Extrair e quantificar os compostos fenólicos presentes na casca da uva Niágara Rosada (*Vitis labrusca L.*), utilizando-se a espectrofotometria de UV/Visível.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar a curva de calibração utilizando a rutina como padrão, e aplicá-la como referência na quantificação das amostras.
- Extrair os compostos fenólicos da casca da uva utilizando-se o metanol como solvente.
- Quantificar os compostos fenólicos nas amostras da casca da uva por espectrofotometria na região do UV-Vis, utilizando-se o comprimento de onda de 420 nm.
- Realizar uma comparação entre a quantidade total de flavonoides obtidos na casca da uva com outros estudos científicos que conduziram análises semelhantes.

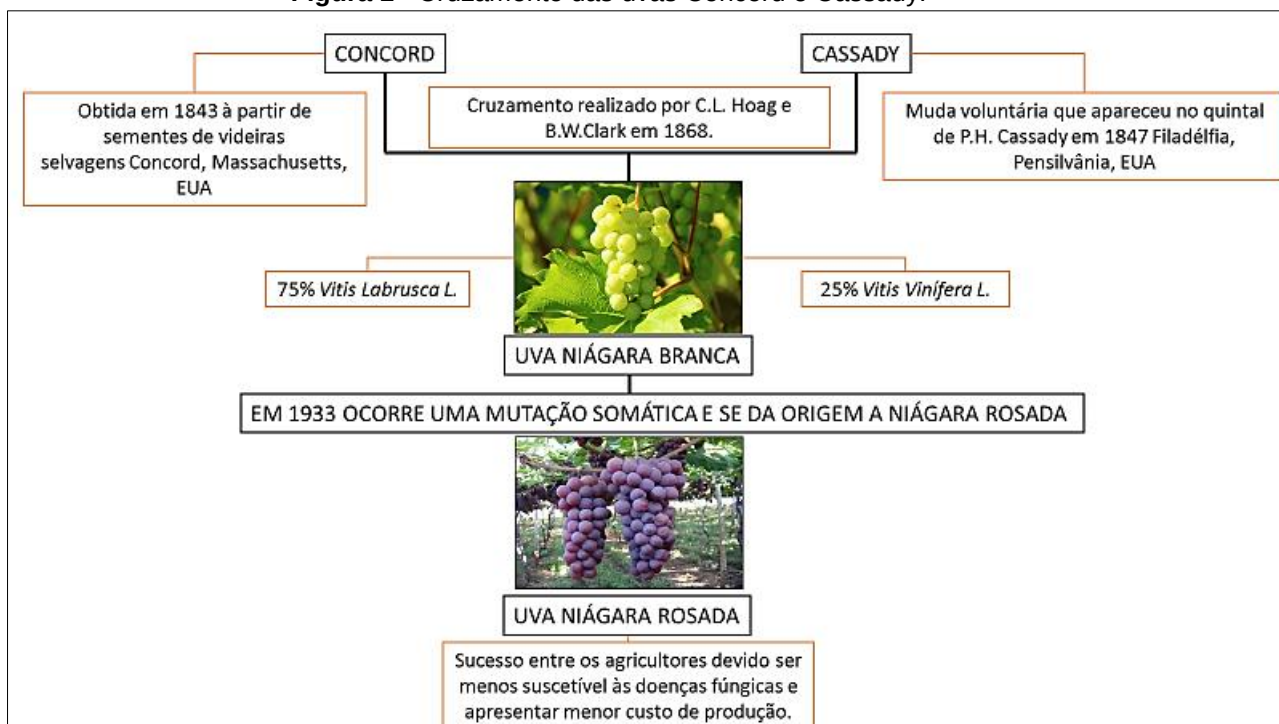
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Uva Niágara Rosada (*Vitis labrusca* L.)

A uva Niágara rosada é uma mutação da uva Niágara Branca que sua origem foi obtida por C. L. Hoag e B. W. Clark, de Lockport, em 1868, no condado de Niágara, Estado de Nova Iorque, Estados Unidos. Ela teve origem a partir do cruzamento da uva Concord (*Vitis labrusca* L.) com a Cassady (*Vitis vinífera* L.). Dessa forma, a uva Niágara Branca possui a genealogia de 75% de *Vitis labrusca* L. e 25% de *Vitis vinífera* L. Em virtude de não ser uma espécie totalmente pura, apresenta-se média resistência às doenças fúngicas (MAIA, 2012).

A sua origem no Brasil se deu através de Benedito Marengo, em 1894, quando trouxe os bacelos dos Estados Unidos. Os bacelos foram plantados em sua chácara, perto da cidade de São Paulo, onde houve a expansão da produção e foram disseminados pelas regiões do Brasil. Em 1933, a uva Niágara Branca sofreu uma mutação somática, na qual gerou a uva Niágara rosada, conforme demonstrado na Figura 1. Rapidamente a comercialização expandiu-se para os estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Minas Gerais. A uva Niágara Rosada, tornou-se um sucesso entre os agricultores devido ser menos suscetível às doenças fúngicas e apresentar menor custo de produção (MAIA, 2012).

Figura 1 - Cruzamento das uvas Concord e Cassady.

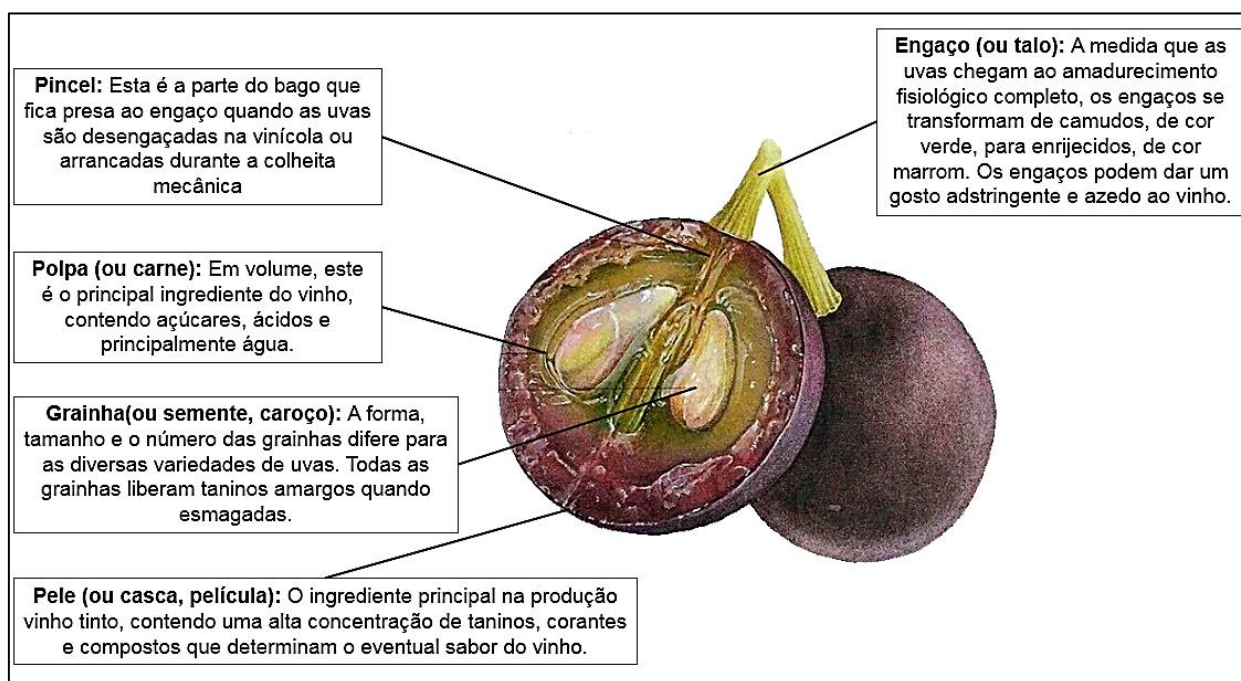


Fonte: Próprio Autor, 2023.

Entretanto, há cerca de 60 espécies de uvas, sendo que a maior parte estão presentes na Ásia, América e nas zonas temperadas do hemisfério norte (ZHU et al., 2015). O consumo comum das uvas é in natura, porém existem outros produtos que são obtidos através dela, como o suco, geleias, vinhos, óleo de semente de uva, doce, passas, dentre outros (BERES et al., 2017; ZHU et al., 2015).

A uva "Niágara Rosada" e a uva "Isabel", ambas pertencentes à mesma espécie, são reconhecidas e populares como variedades de uvas de mesa. O fato de serem mais tolerantes às doenças fúngicas devido as suas características morfológicas e por exigirem menos tratos culturais e serem cultivadas em um sistema orgânico, tornando-a uma espécie mais popular (LEÃO, 2000). Na Figura 2, é possível visualizar a anatomia da uva.

Figura 2 – A uva e a sua anatomia.



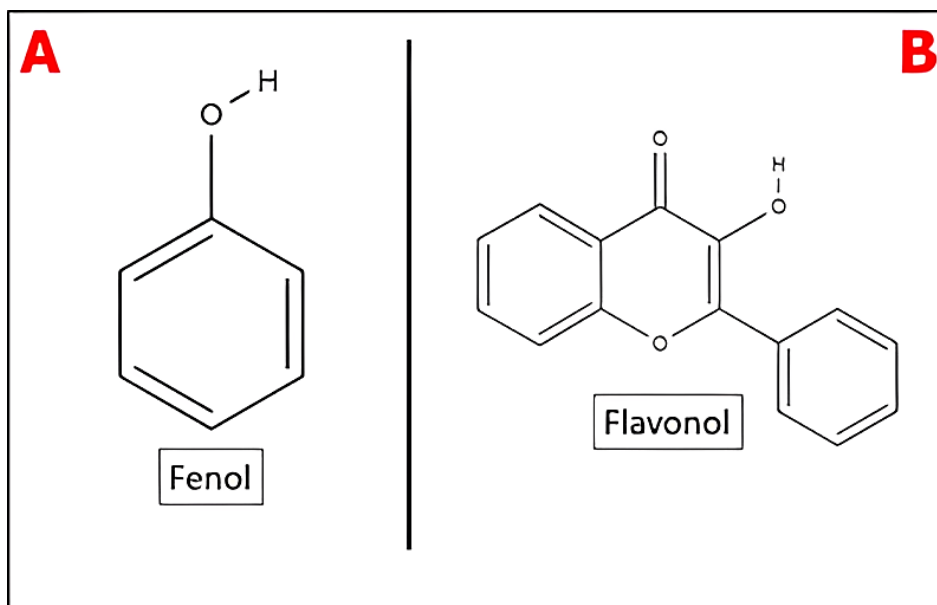
Fonte: Adaptado - Sociedade da mesa (2021).

Cada vez mais, o consumidor demonstra crescente preocupação com a qualidade dos produtos que pretende adquirir, avaliando tanto a integridade da fruta quanto a possível presença de resíduos tóxicos. Por consequência, motiva as mudanças na produção, armazenamento, distribuição e na comercialização de produtos agrícolas (CANTILLANO et al., 2001).

3.2. Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são formados a partir da substituição de um ou mais átomos de hidrogênio por um grupo hidroxila (OH-) na molécula de benzeno. O composto fenólico mais simples é o fenol. De acordo com a Figura 3 é possível visualizar que os compostos fenólicos podem conter variados grupos benzênicos em sua estrutura, detendo como substituintes grupos de hidroxilas. E podem ser classificados como não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos) e flavonoides (polifenóis) (HERNÁNDEZ; PRIETO,1999).

Figura 3 - Estrutura química de (A) não-flavonoides e (B) flavonoides.



Fonte: Próprio autor, utilizando o site molview.org.

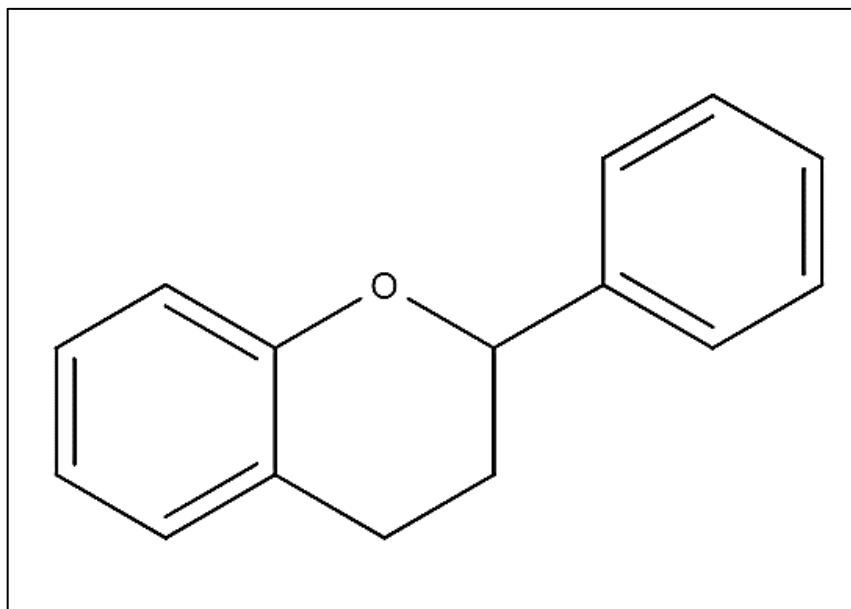
Um vasto conjunto de compostos fenólicos foi identificado em plantas e frutas. Entre os principais fenólicos presentes na uva estão os flavonoides (antocianinas e flavonóis), os estilbenos (como o resveratrol), os ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzoicos) e uma ampla variedade de taninos, tornando-os amplamente distribuídos na natureza. Esse grande grupo de compostos está presente em uma variedade de vegetais e frutas. São responsáveis pelos pigmentos, que dão uma aparência colorida aos alimentos. Possuem compostos que agem como antioxidantes, devido à sua capacidade em doar hidrogênio ou elétrons aos seus radicais intermediários estáveis, que inibem a oxidação em diversos alimentos, exclusivamente de lipídios (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Devido ao fato que os antioxidantes sintéticos possuírem um alto potencial cancerígeno, a busca por antioxidantes naturais pelas indústrias vem aumentando cada vez mais. As matérias-primas in natura como: plantas, frutas e vegetais abrangem muitos nutrientes fitoquímicos além dos compostos fenólicos, como por exemplo os carotenoides, ácido ascórbico, tocoferóis e os flavonoides. A maior parte destes fitoquímicos revelam uma capacidade antioxidante, no entanto os flavonoides destacam-se não apenas por suas propriedades antioxidantes, mas também por suas significativas atividades farmacológicas, tais como ação antitumoral, anti-inflamatória, antiviral, entre outras (DEGÁSPARI, 2004).

3.2.1. Flavonoides

Um dos maiores e mais diversos grupos de compostos fenólicos entre os produtos naturais é a família dos flavonoides. Atualmente já se conhece aproximadamente mais de 4.200 variedades de flavonoides que foram identificadas no reino vegetal (SIMÕES et al., 2007). Os flavonoides são constituídos por uma estrutura básica formada por C6-C3-C6 (Figura 4).

Figura 4 - Estrutura básica dos flavonoides.

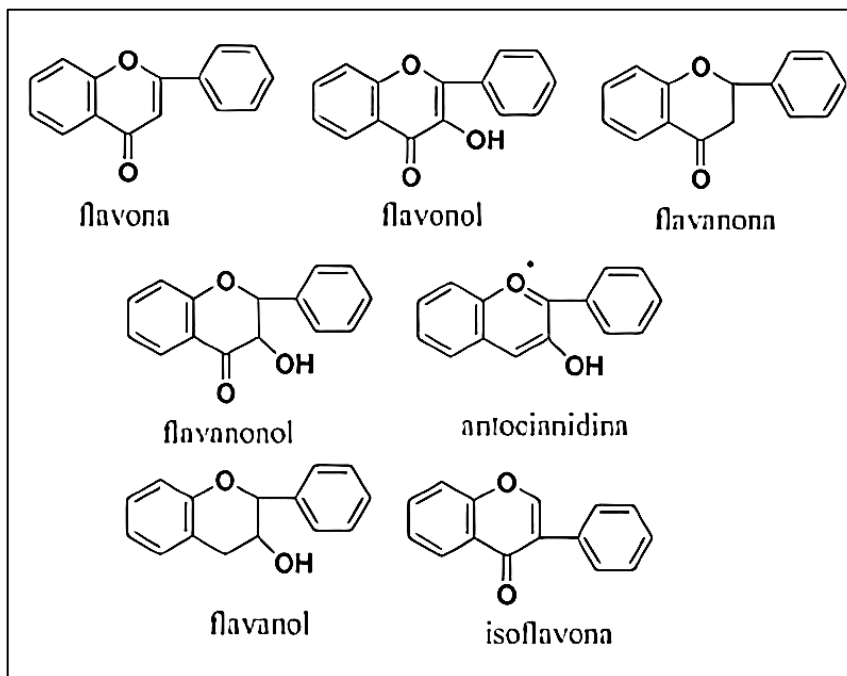


Fonte: Adaptado - Cook e Sammans (1996)

A variação do número, lugar e combinação dos grupos no anel central dessas substâncias permitem à diferenciação das seguintes subclasses: antocianidinas,

flavonóis, flavanonas, flavanonóis, isoflavonas, chalconas, flavan-3-ols e a flavonas (Figura 5) (OLIVEIRA et al., 2006).

Figura 5 - Diferentes subclasses dos flavonoides.

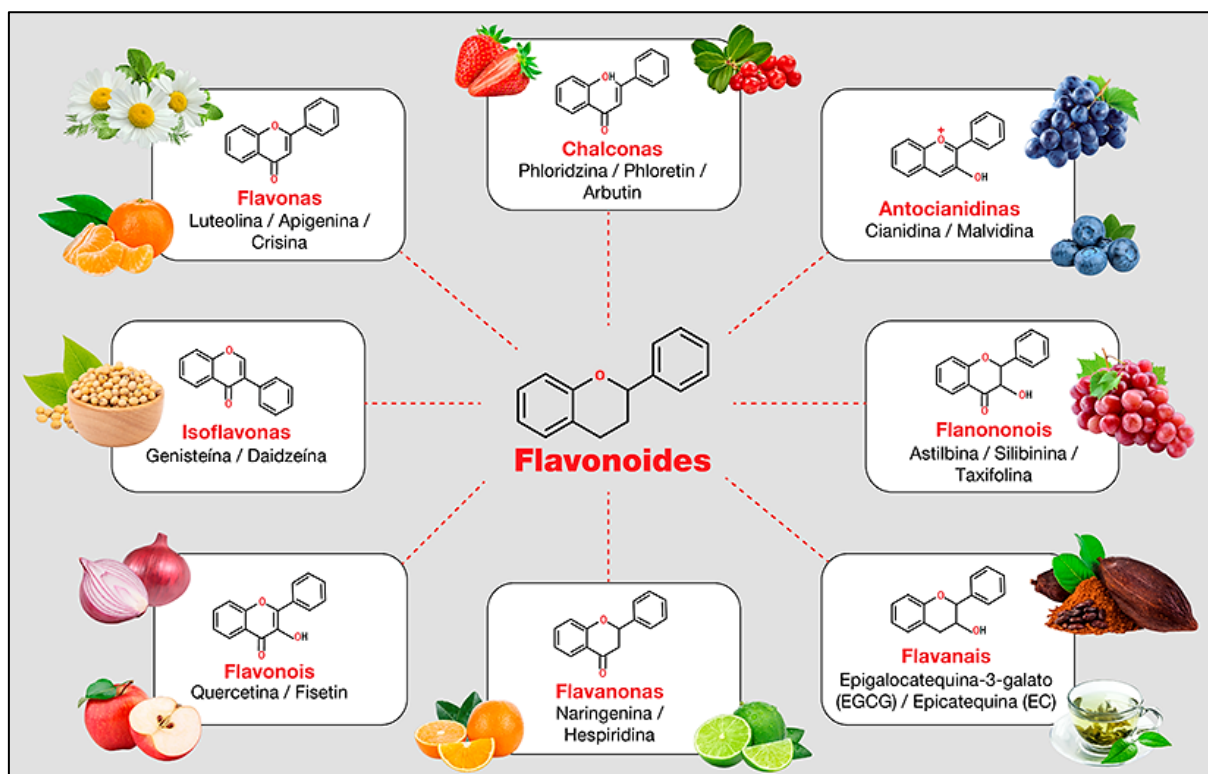


Fonte: Adaptado de MAGALHÃES e SANTOS (2021)

Os flavonoides desempenham muitas funções nas plantas, como: a proteção contra raios ultravioleta, vírus, insetos, bactérias e a atração de animais polinizadores (SANTOS; RODRIGUES, 2017). A respeito da atividade anti-inflamatória, os flavonoides possuem a capacidade de inibir a proliferação de linfócitos T, nas quais produzem as citocinas pró inflamatórias (COUTINHO et al., 2009).

Uma das principais fontes de flavonoides na alimentação são as frutas cítricas, incluindo uva, laranja, goiaba, maçãs, amoras, morangos e cerejas, além de vegetais como brócolis, espinafre, cebola tomate, além de chás e vinho tinto. Cada subclasse tem sua própria estrutura química única e, portanto, seus próprios benefícios para a saúde (OLIVEIRA; ESPESCHIT; PELUZIO, 2006). De acordo com a Figura 6, é possível visualizar a classificação de flavonoides conforme a fruta.

Figura 6 - Frutas e suas variedades de flavonoides.



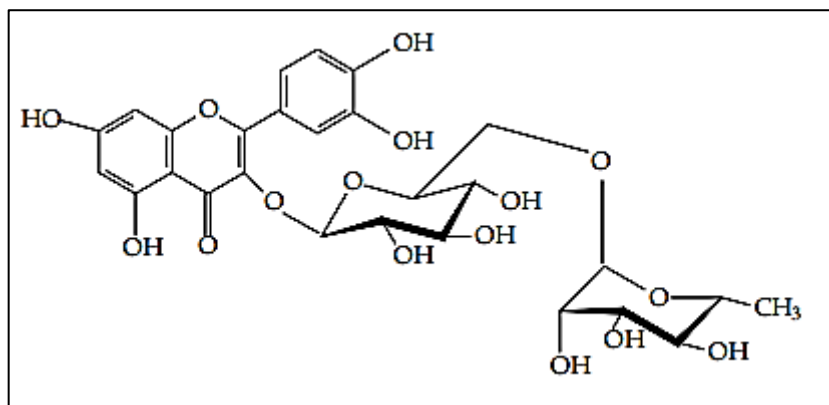
Fonte: Adaptado - Active Pharmaceutica, 2021.

3.2.2. Rutina

A rutina, Figura 7 é uma espécie de flavonoide que pertence à subclasse dos flavonóis, que desde a sua descoberta em 1936, tem sido amplamente estudada. Inicialmente, acredita-se que sua descoberta estivesse restrita ao grupo da vitamina P (SAVI et al., 2017). Pesquisas subsequentes, no entanto, revelaram que esta substância não possuía propriedades vitamínicas, mas propriedades de um flavonoide glicosídico. Os flavonoides glicosídicos são compostos orgânicos que ao se submeterem ao processo de hidrólise, transformam-se em glicose. (BECHO; MACHADO; GUERRA 2009).

Uma das características da rutina é a sua utilização em formulações cosméticas e farmacêuticas devido às suas propriedades antioxidantes e vaso protetoras (PEDRIALI, 2005). Esse flavonoide é encontrado em diversas fontes alimentares como na cebola, uva, feijão vermelho, maçãs e tomates (THOMPSON et al., 1999; HOLLMAN et al., 1996).

Figura 7 - Estrutura da rutina.



Fonte: PEDRIALI, 2005.

Devido à capacidade da Rutina de interagir com outros flavonoides e formar complexos coloridos estáveis, ela é frequentemente usada como padrão para a quantificação, permitindo a detecção e a medição de flavonoides por meio de métodos espectrofotométricos (SOBRINHO et al., 2008).

3.3. Benefícios dos flavonoides na uva e seus derivados

Cerca de 80% da produção mundial de uvas, são destinadas para a produção de vinho, contudo no processo de vinificação utiliza-se apenas a polpa e em alguns casos a casca da uva para determinar o sabor do vinho tinto. No entanto, grande parte dos compostos fenólicos que se encontram no bagaço, como as sementes, casca e o engaço (ou talo), são descartados como resíduo pela indústria. O bagaço descartado possui grandes quantidades de compostos fenólicos que tem a capacidade anti-inflamatória, antitumoral, antimicrobianos, antioxidante e antienvelhecimento (TROŠT et al., 2016).

Estudos indicaram que os flavonoides têm um efeito cardioprotetor, reduzindo o LDL-c (colesterol ruim) e a peroxidação lipídica das lipoproteínas. Contudo, mais pesquisas são necessárias para determinar a quantidade e a duração necessária da ingestão desses compostos para obter seus benefícios (OLIVEIRA; ESPESCHIT; PELUZIO, 2006).

De acordo com Gieh et al (2007), descobertas revelam que os flavonoides no vinho tinto exercem uma forte ação antioxidante em seres humanos e animais. Isso resulta na redução da oxidação do colesterol LDL, na melhoria da função endotelial e

na diminuição da pressão arterial. Por outro lado, foi constatado que o suco de uva tinto possui uma concentração mais elevada desses compostos em comparação com o vinho tinto. Além disso, observou-se uma melhora nos fatores de risco ligados à aterosclerose, como a redução da agregação plaquetária, a diminuição da pressão arterial e o aprimoramento da função endotelial. Entretanto, alguns estudos não demonstraram sua capacidade de prevenir a oxidação do colesterol LDL.

3.4. Espectrofotometria UV/Visível

A espectrofotometria UV-VIS é uma técnica analítica amplamente utilizada devido à sua versatilidade, custo acessível e aplicabilidade em diversas áreas. Consiste no uso de um espectrofotômetro para medir a absorção ou transmissão de luz por uma amostra em comprimentos de onda entre 400 a 700 nanômetros. A luz da fonte passa pela amostra em uma cubeta transparente, e um detector mede a intensidade da luz que passa através da amostra. A absorbância é proporcional à concentração da substância, seguindo a Lei de Lambert-Beer. Além de medir diretamente substâncias que absorvem radiação, ela também pode realizar medições após modificações químicas. O uso de reagentes ajuda na detecção sensível e seletiva de espécies com baixa absorção, permitindo a identificação de quantidades menores de analitos (ROCHA; TEIXEIRA, 2004). Essa técnica é reconhecida por suas vantagens, sendo especialmente empregada no controle de qualidade na indústria farmacêutica, onde a rapidez e a confiabilidade dos resultados são essenciais (ALVES et al., 2010).

A equação de Lambert-Beer é uma relação fundamental na espectrofotometria que descreve a absorção de luz por uma solução em função da concentração da substância absorvente e do caminho óptico do feixe de luz através da solução. A equação é expressa da seguinte forma:

A equação $y = a + bx$ é normalmente empregada para correlacionar a absorbância (y) de uma substância em solução com a sua concentração (x). Nesta equação, "a" representa a absorbância da solução quando a concentração é zero, enquanto "b" indica o coeficiente de absorção molar, uma constante que reflete a relação entre a absorbância e a concentração específica da substância. Essa equação descreve a relação linear entre a absorbância e a concentração, facilitando a determinação precisa da concentração de uma substância por meio da avaliação de

sua absorbância, o que é fundamental para garantir a precisão das concentrações determinadas por meio da técnica aplicada (SKOOG et al., 2006).

4. METODOLOGIA

Em relação à metodologia adotada, o presente estudo adotou uma abordagem de pesquisa, com o intuito de gerar conhecimentos que fossem aplicáveis no contexto prático da vida cotidiana. O método empregado foi de natureza experimental e executado no Laboratório de Química Analítica localizado no IFG-Campus Anápolis/GO. A metodologia utilizada teve como base o trabalho de referência de Sobrinho et al. (2008), com algumas adaptações realizadas para atender às especificidades do estudo em questão.

4.1. Obtenção das amostras

As amostras de uva Niágara (*Vitis Labrusca* L.) foram obtidas na cidade de Anápolis-GO (Latitude: 16° 19' 36" S, Longitude: 48° 57' 0" W, Altitude: 1017 m, Área: 1078,2 Km²), no Centro Estadual de Abastecimento (Ceasa). A aquisição foi realizada no mês de abril de 2023.

Após a obtenção de 5 kg de uvas, estas foram submetidas à etapa de esmagamento e despulpamento, resultando na separação das cascas. O peso total das cascas foi de 1 kg. Posteriormente, as cascas foram devidamente lavadas e transportadas em bandejas ao laboratório, onde passaram por um processo de secagem em uma estufa (Nova ética / Ethik) com temperatura controlada a 45 °C, durante um intervalo de 7 dias. Após o término da secagem, as amostras foram pulverizadas em um liquidificador e armazenadas em um recipiente de plástico com tampa.

4.2. Preparo da solução padrão de rutina

No processo de preparo da solução de rutina, foi realizado a pesagem de 250 mg do padrão de rutina, o qual foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, adicionou-se 30 mL de metanol ao balão, agitando manualmente por aproximadamente 10 minutos ou até que ocorresse a completa solubilização. Posteriormente, o volume do balão foi completado com metanol e, por fim, a solução foi homogeneizada. Dessa forma, obteve-se uma concentração final de 2,5 mg/mL para o padrão de rutina.

4.3. Preparo da curva de calibração

Para a construção da curva de calibração, foram preparadas cinco soluções metanólicas de rutina com diferentes concentrações, de acordo com o Quadro 1:

Quadro 1: Valores de concentração e volumes da solução de rutina.

Volume (mL)	Concentrações (mg/mL)
0,16	0,016
0,18	0,018
0,20	0,020
0,22	0,022
0,24	0,024

Fonte: Próprio autor, 2023.

O processo de preparação envolveu a transferência volumétrica das soluções metanólicas de rutina para balões volumétricos de 25 mL. Em seguida, foram adicionados 0,6 mL de ácido acético glacial, 10,0 mL de solução metanólica de piridina a 20% e 2,5 mL de cloreto de alumínio em metanol a 50 mg/mL. O volume foi completado com água destilada. Dessa forma, as concentrações finais das soluções foram de 0,024 mg/mL (120%), 0,022 mg/mL (110%), 0,020 mg/mL (100%), 0,018 mg/mL (90%) e 0,016 mg/mL (80%).

Em seguida, a temperatura ambiente, as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro (Bel Espectro S05) UV-VIS a 420 nm, utilizando água destilada como solução em branco para calibrar o aparelho.

4.4. Preparo da amostra e quantificação no espectrofotômetro

Em um béquer de 50 mL, foi realizada a pesagem precisa de 0,5 g da casca da uva. Em seguida, adicionou-se 25 mL de metanol como solvente e aqueceu-se a mistura em uma chapa aquecedora por um período de 30 minutos, garantindo que a temperatura não ultrapassasse os 60 °C, sendo o termômetro utilizado para monitorar o aquecimento. Após o aquecimento, a solução foi filtrada utilizando-se um papel filtro e transferida para um balão volumétrico de 25 mL. Para garantir a recuperação completa da amostra, utilizou-se 10 mL de metanol para a lavagem dos resíduos no béquer. Em seguida, o volume do balão foi completado até o menisco com metanol.

A partir da solução diluída, foi pipetado 1 mL para um balão volumétrico de 25

mL, ao qual adicionou-se 0,6 mL de ácido acético glacial, 10,0 mL de solução metanólica de piridina 20% e 2,5 mL de cloreto de alumínio em metanol 50 mg/mL. O volume do balão foi completado até o menisco com água destilada.

Posteriormente, a amostra foi lida em um espectrofotômetro utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de espessura de caminho óptico. As leituras das amostras foram realizadas utilizando-se o padrão de referência correspondente a uma concentração de 0,020 mg/mL (100%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Curva de calibração no espectrofotômetro

A construção da curva de calibração foi realizada com diferentes soluções de rutina em concentrações conhecidas e a subsequente leitura dessas soluções no espectrofotômetro. A finalidade foi estabelecer uma relação entre a concentração da substância e a absorbância medida. Os resultados dessas análises estão registrados na Tabela 1:

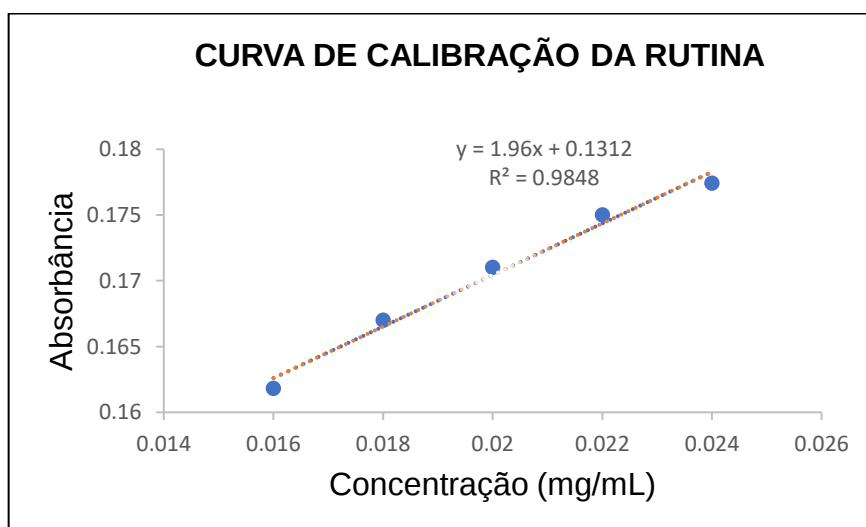
Tabela 1: Valores de concentração e absorbância de cada padrão de rutina.

Padrão (%)	Concentração (mg/mL)	Absorbância
80	0,016	0,1618
90	0,018	0,1670
100	0,020	0,1710
110	0,022	0,1750
120	0,024	0,1774

Fonte: Próprio autor, 2023.

Ao analisar os dados apresentados na Tabela 2, pode-se observar uma clara relação de proporcionalidade entre os valores de concentração e absorbância. Conforme a concentração de rutina é aumentada, há um correspondente aumento na absorbância. Com base nesses resultados, foi possível construir a curva de calibração da rutina, como apresentado na Figura 8.

Figura 8 - Curva de calibração da rutina.



Fonte: Próprio autor, 2023.

É importante destacar que o coeficiente de correlação (R^2) obtido para a curva de calibração foi de 0,9848, um valor satisfatório representando a linearidade da curva. Esse coeficiente indica o grau de ajuste dos pontos experimentais à curva, sendo próximo de 1, o que indica uma excelente correlação entre a concentração de rutina e a absorbância medida (FILHO; JUNIOR, 2009).

Portanto, os resultados obtidos demonstram a confiabilidade da curva de calibração, estabelecendo uma relação consistente entre os níveis de concentração e a absorbância da rutina.

5.2. Extração e quantificação de flavonoides na casca da uva

A obtenção da amostra seguiu o procedimento descrito na seção 4.1. Em seguida, foi realizada a pesagem de 5,002 g da casca de uva pulverizada, conforme ilustrado na Figura 9. Essa quantidade de amostra foi adicionada a um béquer contendo 25 mL de metanol.

Figura 9 - Pesagem da amostra.



Fonte: Próprio autor, 2023

De acordo com a seção 4.4, foi mantida uma temperatura controlada abaixo de 60 °C, conforme demonstrado na Figura 10. Considerando que o aumento da temperatura facilita a extração dos compostos fenólicos. No entanto, temperaturas elevadas podem resultar na degradação dessas substâncias (BARBOSA, PAES, PEREIRA, 2016).

Figura 10 - Amostra na chapa aquecedora.



Fonte: Próprio autor, 2023

Posteriormente, as amostras foram filtradas e armazenadas em frascos âmbar, tendo em vista que a exposição prolongada dos compostos fenólicos à luz pode ocasionar sua degradação (OLIVEIRA et al., 2022).

Seguindo o procedimento experimental, foram obtidos os resultados da relação entre a absorbância e a concentração da solução por meio da curva de calibração, como ilustrado na Tabela 2. Os cálculos para determinar os valores das concentrações de flavonoides estão detalhados no Anexo 1.

Tabela 2: Valores de absorbância e concentração de flavonoides na amostra.

Amostra	Absorbância	Concentração de flavonoides em (mg/ml)
1	0,162	0,0157

Fonte: Próprio autor, 2023

De acordo com o estudo conduzido por Abe et al. (2007), a presença de 208 mg de compostos fenólicos totais foi identificada em uma amostra de 100 g de mosto de uvas, utilizando o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para a determinação desses compostos fenólicos. No entanto, no âmbito deste estudo, constatou-se a obtenção de 0,3925 mg de flavonoides em uma quantidade de 0,5 g da casca de uva, conforme o Anexo 2. Ao realizar os cálculos para simular um resultado de 100 g de amostra, obteve-se um valor de 78,5 mg de compostos fenólicos totais na casca da uva, conforme o Anexo 3.

Com base nos dados apresentados, ficou evidente uma variação de 129,5 mg em relação ao estudo de Abe et al. (2007). No entanto, essa diferença é considerada aceitável, principalmente considerando que Abe utilizou o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

De acordo com Castilhos (2011), foi observada uma quantidade aproximada de 102 mg/100 g de flavonoides em uvas frescas, também empregando o método de CLAE. Cada estudo comparado adotou metodologias e amostras distintas, o que justifica as diferenças nos resultados, já que o presente estudo se baseou na metodologia de Sobrinho et al. (2008) e utilizou a espectrofotometria de UV/visível, enquanto os estudos mencionados utilizaram CLAE.

6. CONCLUSÃO

Deste modo, os resultados deste estudo ressaltam a relevância dos flavonoides presentes na casca da uva Niágara Rosada, esses flavonoides são reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e integrar regularmente uvas na alimentação tem sido associado à redução do risco de doenças cardiovasculares.

Os resultados indicaram 0,3925 mg de flavonoides totais em 0,5 g da casca de uva e 78,5 mg em 100 g. Esses dados destacam uma concentração significativa de flavonoides na casca da uva Niágara Rosada.

A importância do método de espectrofotometria UV/Visível como ferramenta analítica para a quantificação dessas substâncias é enfatizada devido ao custo acessível e a sua facilidade de aplicação. Essas descobertas fornecem subsídios valiosos para pesquisas futuras e aplicações práticas relacionadas à valorização desses compostos bioativos na indústria e na melhoria da saúde.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394–400, 2007.
- ALVES, L. D. S. et al. Desenvolvimento de método analítico para quantificação do efavirenz por espectrofotometria no UV-Vis. **Química Nova**, v. 33, p. 1967–1972, 2010.
- BARBOSA, N. A.; PAES, M. C. D.; PEREIRA, J. Influência da temperatura e do solvente na obtenção de extrato de milho de grãos pretos. UFLA. **XXXI congresso nacional de milho e sorgo**, 2016.
- BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. DE O. Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais - Animais e Humanos Interdisciplinary Journal of Experimental Studies**, v. 1, n. 1, 2009.
- BERES, C. et al. Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. **Waste Management**, v. 68, p. 581–594, 2017.
- BRAND-WILLIAMS, W. et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BUFFON, M.; MIGUEL, M. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. v. 21, p. 7–13, 2003.
- CANTILLANO, R. F. F. et al. Mercado de alimentos: tendência mundial. **Informe Agropecuário**, v.22, n. 213, p. 79-84, 2001.
- Características da uva: a anatomia da fruta. **Sociedade da Mesa**. Disponível em: <<https://revista.sociedadedamesa.com.br/2021/02/caracteristica-da-uvas/>>. Acesso em: 5 abr. 2023.
- CASTILHOS, N. D. B. Extração e quantificação de antocianinas na uva Brasil. 2011. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, Pato Branco, 2011.
- Cook NC, Sammans S. Flavonoids- Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **J Nutr Biochem**. 7:66-76, 1996.
- COUTINHO, M. A. S. et al. Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório. **Revista Virtual de Química**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.
- DEGÁSPARI, C. H. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33–40, 2004.
- FILHO, B. F. D.; JUNIOR, A. S., J. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, p. 115–146, 2009.

Flavonoides e seus efeitos benéficos sobre a imunidade. **Active pharmaceutical**. 2021. Disponível em: <https://www.activepharmaceutica.com.br/blog/flavonoides-e-seus-efeitos-beneficossobre-a-imunidade>. Acesso em: 7 de abr. 2023.

GIEH, M.R.; et al. Eficácia dos flavonoides da uva, vinho tinto e suco de uva tinto na prevenção e no tratamento secundário da aterosclerose. **Scientia Medica**, vol. 17, n. 3, 2007.

HERNÁNDEZ, A. M.; PRIETO, G. E. A. Plantas que contienen polifenoles. **Revista Cubana de Investigaciones Biomedica**, Ciudad de La Habana, v.18, n. 1, p. 12-14, 1999.

HOLLMAN, P. C. H.; HERTOOG, M. G. L.; KATAK, M. B., Analysis and health effects of flavonoids. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 57. n. 1, p. 43-46, 1996.

LEÃO, P. C. de S. Principais variedades. In: LEÃO, P.C. de S.; SOARES, J. M. (Coords.) A Viticultura no semiárido brasileiro. **Petrolina: Embrapa Semi-Árido**, Cap.4, p. 45-64, 2000.

MAGALHÃES, B. E. A; SANTOS, W. N. L. Capacidade antioxidante e conteúdo fenólico de infusões e decocções de ervas medicinais. **Editora Científica Digital**, cap. 15, p. 234-247, 2021.

MAIA, J. D. G. Origem da videira Niágara. In: O cultivo da videira Niágara no Brasil. Brasília, **DF: EMBRAPA UVA E VINHO**, p. 1–15, 2012.

MENEZES, V. Uva: da fruta ao vinho, uma vasta gama de benefícios para a saúde. **Sabor Horti Fruti**. Disponível em: <<https://saberhortifruti.com.br/uva/#:~:text=Mas%20a%20hist%C3%B3ria%20dos%20frutos>>. Acesso em: 3 abr. 2023.

NIJVELDT, R. J. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am. J. Clin. Nutr.** 74, 418, 2001.

OLIVEIRA, A. et al. Efeito do tempo e da luz nos compostos fenólicos totais e na capacidade antioxidante de bebidas de chá mate e branco prontas para o consumo. **Scientia Plena**, v. 18, n. 3, 2022.

OLIVEIRA, V. P. et al. Flavonoides e doenças cardiovasculares: ação antioxidante. **Revista médica de Minas Gerais**, v. 16, n. 4, p. 234-238, 2006.

PEDRIALI, C. A., Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes. 2005. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. **Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2005.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807–812, 2004.

SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 3, p. 29, 2017.

SAVI, P. D. R. S. et al. Análise de flavonoides totais presentes em algumas frutas e hortaliças convencionais e orgânicas mais consumidas na região sul do Brasil. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 12, n. 1, 2017.

SILVA, E. B. DA et al. Capacidade antioxidante de frutas e hortaliças. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 5, p. 93, 2015.

SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6. ed. **Porto Alegre: Editora da UFSC e UFRGS**, 2007.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos De Química Analítica**. 1. ed. 2006.

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59–64, 2008.

SOBRINHO, T. J. DA S. P. et al. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de Bauhinia cheilantha (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 683–689, 2008.

TROŠT, K. et al. Polyphenol, antioxidant and antimicrobial potential of six different white and red wine grape processing leftovers. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, n. 14, p. 4809–4820, 2016.

ZHU, F. et al. Advance on the bioactivity and potential applications of dietary fibre from grape pomace. **Food Chemistry**, v. 186, p. 207–212, 2015.

ANEXOS

Anexo 1 – Cálculo para encontrar a concentração de flavonoides após a realização da curva de calibração.

$$y = a + bx$$

$$y = 1,96 x + 0,1312$$

$$0,162 = 1,96 x + 0,1312$$

$$1,96 x = 0,162 - 0,1312$$

$$1,96 x = 0,0308$$

$$x = 0,0157 \text{ Concentração de flavonoides em (mg/ml)}$$

Anexo 2 – Cálculo para encontrar a concentração de flavonoides na amostra.

$$0,0157 \text{ mg/mL} - 1 \text{ mL}$$

$$x - 25 \text{ mL}$$

$$x = 0,3925 \text{ mg de flavonoides}$$

Anexo 3 – Regra de três para simular um resultado de 100g de amostra.

$$0,5 \text{ g de amostra} - 0,3925 \text{ mg de flavonoides}$$

$$100 \text{ g de amostra} - x$$

$$x = 78,5 \text{ mg de flavonoides totais}$$