



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**

**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

**UNIDADE ACADÊMICA DE FÍSICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NA  
IDENTIFICAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS FUNCIONAIS DO GRUPO DOS  
POLIFENÓIS EM FRUTAS E VEGETAIS**

**FAUSTO VAZ DE OLIVEIRA**

Campina Grande – Paraíba - Brasil

Março, 2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**

**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

**UNIDADE ACADÊMICA DE FÍSICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

**FAUSTO VAZ DE OLIVEIRA.**

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NA  
IDENTIFICAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS FUNCIONAIS DO GRUPO DOS  
POLIFENÓIS EM FRUTAS E VEGETAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada á  
Coordenação do Programa de Pós -  
graduação em Física da Universidade Federal  
de Campina Grande como parte dos  
requisitos para a obtenção do grau de Mestre  
em Física.

Orientador: Prof. Dr. José Suassuna Filho

Campina Grande – Paraíba - Brasil

Março, 2014

## FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- O48a Oliveira, Fausto Vaz de.  
Aplicação da espectroscopia fotoacústica na identificação de biomoléculas funcionais do grupo dos polifenóis em frutas e vegetais / Fausto Vaz de Oliveira. – Campina Grande, 2014.  
113 f. : il. Color.
- Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.
- "Orientação: Prof. Dr. José Suassuna Filho".  
Referências.
1. Espectroscopia. 2. Fotoacústica. 3. Biomoléculas Funcionais. 4. Polifenóis. 5. Flavonóides. I. Suassuna Filho, José. II. Título.

CDU 543.42 (043)

**FAUSTO VAZ DE OLIVEIRA**

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NA  
IDENTIFICAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS FUNCIONAIS DO  
GRUPO DOS POLIFENÓIS EM FRUTAS E VEGETAIS**

Dissertação aprovada em 13/03/2014

**BANCA EXAMINADORA**



(Presidente)

Prof. Dr. José Suassuna Filho  
Unidade Acadêmica de Física – UFCG



(Membro Interno)

Dr. Rodrigo José da Silva Lima  
Unidade Acadêmica de Física – UFCG



(Membro Externo)

Profª. Drª. Morgana Lígia de Farias Freire  
Departamento de Física – UEPB

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, a DEUS  
pela vida e a minha esposa  
pelo apoio e compreensão.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Suassuna Filho, pela orientação, e contribuição que possibilitou a realização deste trabalho.

Ao Dr. Rodrigo Lima, pelo apoio incontestável a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco Brito, pelo apoio e compreensão.

Ao Prof. Dr. Eduardo Passos, pelo apoio e incentivo neste curso.

A todos os Professores da UAF–UFCG pelos conhecimentos transmitidos e pela convivência em todos os momentos.

A todos os colegas e amigos do curso de mestrado que muito me ajudaram.

A todos os Funcionários da UAF–UFCG, pela convivência e apoio em todos os momentos.

A Capes e o CNPq, pelo apoio financeiro.

“O Silêncio é um amigo que nunca trai.”

(Confúcio)

## RESUMO

Neste trabalho usamos a técnica de Espectroscopia Fotoacústica na identificação de Biomoléculas Funcionais, presentes em várias frutas e vegetais. Essas biomoléculas, em geral compostos polifenólicos, formam grupos de substâncias amplamente distribuídos em plantas, frutas e legumes, componentes comuns da alimentação humana, especialmente flavonóides e taninos que possuem diversas propriedades terapêuticas e farmacológicas. Dentre as espécies de frutas e cereais investigadas, cientificamente estabelecidas como depositárias de moléculas bioativas, algumas se destacam por suas excelentes propriedades funcionais, tendo, por este motivo, recebido o nome pomposo de “superfrutas”. São elas caracterizadas por apresentarem altas concentrações de polifenóis tais como as antocianinas, os flavonóis (quercetinas, kaempferol, catequinas, resveratrol e taninos), os ácidos fenólicos como o gálico, o ascórbico, o elágico, o clorogênico, o benzóico, o felúrico, etc e os carotenóides, onde se destacam o  $\beta$ -caroteno, licopeno, violaxantina, zeaxantina, luteína, neoxantina, dentre outras. As superfrutas são assim classificadas por exibirem extraordinário valor funcional. Os resultados experimentais obtidos por espectroscopia fotoacústica para os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  que representa os picos de absorção em cada amostra de frutas e vegetais investigados evidenciam a existência de Biomoléculas Funcionais, que fazem bem a saúde humana. Nossos resultados, obtidos pela técnica de Espectroscopia Fotoacústica, confirmam esta como uma ferramenta experimental de grande potencial e eficiência na identificação de biomoléculas em sistemas biológicos “in natura”, sem necessidade de utilização de processos exaustivos de extração molecular.

**Palavras-chaves:** Espectroscopia, Fotoacústica, Biomoléculas Funcionais, Polifenóis, Flavonóides.



## ABSTRACT

In this work we have used the technique of Photoacoustic Spectroscopy to identify Functional Biomolecules, present in various fruits and vegetables. These polyphenolic compounds constitute groups of substances widely distributed in plants, fruits and vegetables, common components of the human diet, especially anthocyanins, flavonols, tannins and carotenoids that have been found to exhibit several therapeutic and pharmacological properties. Among the fruits and vegetables species investigated and scientifically established as host for bioactive or functional biomolecules, some of them are detached by their excellent functional properties, then, have been nominated as “superfruits”. They are characterized by exhibit high concentrations of polyphenols compounds such as anthocyanins, flavonols (quercitins, kaempferol, catechins, tannins), the phenolic acids such as the gallic, ascorbic, ellagic, chlorogenic, benzoic, ferulic, etc, and the carotenoids  $\beta$ -carotene, lycopene, violaxanthin, zeaxanthin, lutein, neoaxanthin among others. The “superfruits” are classified in this way for exhibit functional extraordinary value. The experimental results obtained by photoacoustic spectroscopy  $\lambda_{max}$  for the wave lengths representing the absorption peaks of each sample of fruits and vegetables investigated showed the existence of Functional Biomolecules, which are human health as well. Our results obtained by the technique Photoacoustic Spectroscopy confirm this as an experimental tool with great potential and efficiency in the detection of biomolecules in biological systems “in nature”, without the need of using exhaustive molecular extraction processes.

**Keywords:** Spectroscopy, Photoacoustic, Functional Biomolecules, Polyphenols, Flavonoids.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Estrutura básica (esqueleto) do Fenol.....	4
Figura 2.2 - Estrutura básica (Esqueleto) dos flavonóides.....	5
Figura 2.3 – Estrutura dos principais tipos de flavonóide: (a) flavonol, (b) flavan-3-ol, (c) flavona e (d) antocianinas. ....	5
Figura 2.4 - Estrutura básica dos flavonóis com várias posições para hidroxilas (posição 3,5 e 7).....	6
Figura 2.5 – Estrutura dos flavonóis: (a) kaempferol e (b) quercetina. ....	6
Figura 2.6 – Estrutura básica do resveratrol.....	10
Figura 2.10 – Estrutura básica de uma antocianina glucosada.....	14
Figura 2.11 – Estrutura das: (a) epicatequina e (b) catequina. ....	14
Figura 2.13 – Estrutura de ácidos hidroxibenzôlico.....	18
Figura 2.14 – Estrutura (C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> ) de ácidos hidrocínâmicos. ....	19
Figura 2.15 – $\beta$ – caroteno C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> .....	20
Figura 3.1 – Orbitais ( $\pi$ , $\pi^*$ ) formados a partir de Orbitais Atômicos $p_x$ e $p_y$ . Tais ligações têm plano de simetria perpendicular ao plano da molécula [29]. ....	25
Figura 3.2 – Diagrama genérico de orbitais moleculares e possíveis transições UV-Vis em moléculas diatômicas heteronucleares [29]. ....	26
Figura 3.3 – Estrutura das ligações da molécula do Benzeno C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> [29]. ....	31
Figura 3.4 – Anel benzênico. ....	31
Figura 3.5 – Diagrama de orbitais moleculares e respectivas energias para o benzeno [28].	36
Figura 3.6 – Diagrama de orbitais moleculares do benzeno e respectivas energias dos orbitais ligantes, E(a <sub>2u</sub> ) e 2E(e <sub>1g</sub> ) e dos orbitais antiligantes, 2E(e <sub>2g</sub> ) e E(b <sub>2u</sub> ). ....	37

Figura 3.7 – Espectros eletrônicos UV do benzeno, mostrando uma banda benzenóide B de absorção, resultantes de transição $\pi \rightarrow \pi^*$ que ocorre em torno de $\lambda_{\text{máx.}} = 184\text{nm}$ [29].	39
Figura 3.8 – Espectro de absorção UV do dieno bicíclico mostrando a estrutura fina como resultados das transições vibracionais [29].	40
Figura 3.9 – Espectros UV-Vis do naftaleno (rosa), antraceno (verde) e tetraceno (azul) [29].	41
Figura 3.10 – Disco de cores de Atkins ilustrando as cores do espectro visível e as correspondentes cores complementares. Para cada cor a complementar é a cor oposta neste diagrama.	41
Figura 3.11 – Estrutura moderna da molécula do benzeno [29].	42
Figura 4.1 – Comportamento da luz em diversos materiais: (a) opacos, (b) absorvedor e (c) transparente [29].	45
Figura 4.2 – Radiação de fótons [29].	46
Figura 4.12 – Porta amostras da célula PAS [39].	59
Figura 5.1 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Açaí.	60
Figura 5.2 – Espectro fotoacústico no Visível de 400 a 600 nm no Açaí.	61
Figura 5.3 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Cupuaçu.	64
Figura 5.4 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm no Cupuaçu.	65
Figura 5.5 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Castanha do Brasil.	68
Figura 5.6 – Espectro fotoacústico no UV-Vis de 350 a 750 nm na Castanha do Brasil.	69
Figura 5.7 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Maçã.	72
Figura 5.8 – Espectro fotoacústico no UV-Visível de 350 a 750 nm na Maçã.	73
Figura 5.9 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Uva.	76
Figura 5.10 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Uva.	77

Figura 5.11 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Acerola.....	80
Figura 5.12 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Acerola. ....	81
Figura 5.13 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Caju.....	84
Figura 5.14 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm no Caju.....	85
Figura 5.15 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Caqui.....	88
Figura 5.16 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm no Caqui.....	89
Figura 5.17 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Cebola Roxa.....	92
Figura 5.18 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Cebola Roxa. ....	93
Figura 5.19 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Tomate. ....	96
Figura 5.20 – Espectro fotoacústico no UV-visível de 350 a 750 nm no Tomate. ....	97
Figura 5.21 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Cenoura. ....	101
Figura 5. 22 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Cenoura. ....	102

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Os flavonóis mais comuns.....	7
Tabela 2.2 – Concentração de flavonóis (expressa em mg/kg ) em alguns alimentos, determinados pelos métodos HPLC após hidrólise dos seus glicósidos [4, 5]. .....	8
Tabela 2.3 – Concentração de polifenóis em diversas espécies de Frutas Tropicais Brasileiras.....	13
Tabela 2.4 – Espécies de Antocianinas com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{\max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV-visível Convencional [4, 5]. .....	17
Tabela 2.5 – Espécies de flavonóis e flavonas com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{\max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV-Vis Convencional [4, 5]. .....	18
Tabela 2.6 – Espécies de ácidos fenólicos com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{\max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV-Visível Convencional [4, 5]......	19
Tabela 2.7 – Espécies de Carotenóides com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{\max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV-Visível Convencional [27]......	20
Tabela 5.1 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Açaí ( <i>Euterpe Olerácea Mart</i> )......	62
Tabela 5.2 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Cupuaçú ( <i>Theobroma Gradflorum</i> ). .....	66
Tabela 5.3 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Castanha do Brasil ( <i>Bertholletia Excelsa</i> ). .....	70
Tabela 5.4 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Maçã ( <i>Malus Domestica Borkh</i> ). .....	74
Tabela 5.5 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Uva ( <i>Vitis Vinífera L.</i> )......	78
Tabela 5.6 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Acerola ( <i>Malpighia Geabra L.</i> ) .....	82

Tabela 5.7 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no.....	86
Tabela 5.8 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no.....	90
Tabela 5.9 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Cebola Roxa ( <i>Allium Cepa</i> ). .....	94
Tabela 5.10 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Tomate ( <i>Solanum Lycopersicum</i> ). .....	99
Tabela 5.11– Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Cenoura ( <i>Daucus Carota</i> ) .....	103
Tabela 5.12 – Materiais investigados onde foram identificadas biomoléculas de carotenóides e de flavonóides, usando a técnica de PAS.....	105

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1. Sistemas Biológicos (polifenóis).....	4
2.2. O Grupo Flavonóide.....	4
2.2.1. Flavonóis .....	6
2.2.2. Quercentina .....	8
2.2.3. Kaempferol.....	9
2.2.4. Resveratrol .....	9
2.2.5. Algumas propriedades dos flavonóis .....	10
2.2.6. Flavonas .....	10
2.2.7. Isoflavonas .....	11
2.2.8. Antocianinas.....	12
2.2.9. Catequina.....	14
2.2.10. Proantocianinas (Taninos condensados) .....	14
2.3. Algumas propriedades das antocianinas .....	15
2.3.3. Ácidos Fenólicos.....	18
2.3.4. Carotenóides.....	20
3. Aspectos Teóricos .....	22
3.1. Teoria de Orbitais Moleculares (TOM) .....	22
3.1.1. TOM para moléculas conjugadas.....	23
3.1.2. Moléculas diatômicas homonucleares tipo 2 .....	24
3.2. Moléculas poliatômicas – (Heteronucleares).....	26

3.2.1. TOM – Aproximações de Huckel .....	28
3.3. Orbitais moleculares e energias do benzeno .....	30
3.3.1. Aproximações de Huckel para o benzeno .....	32
3.4. Espectro UV-Visível do benzeno .....	38
3.5. Espectros UV-Visível e a cor das substâncias .....	40
3.6. Bandas de energias moleculares.....	42
4. Detalhes Experimentais.....	43
4.1. Os princípios básicos da espectroscopia .....	43
4.2. Espectroscopia Ótica Convencional.....	44
4.2.1. Decaimento Radioativo – Fótons .....	46
4.2.2. Absorção Ótica.....	47
4.3. Espectroscopia UV-Visível.....	48
4.4. Espectroscopia Fotoacústica .....	49
4.4.1. Decaimento não-Radioativo - Calor.....	50
4.5. Espectrômetro Fotoacústico .....	53
4.5.1. Elementos de Espectroscopia Fotoacústica.....	53
4.5.2. Princípios de Funcionamento do Espectrômetro Fotoacústico .....	55
4.6. Acumulação espectral .....	58
4.7. As amostras .....	59
4.8. Normalização dos espectros .....	59
5. Resultados e Discussões.....	60
6. Conclusões e Perspectivas.....	106
Referências .....	108



## 1. Introdução

Altos níveis de colesterol LDL, triglicerídeos, alta pressão arterial, falta de atividade física e pouca ingestão (ou zero) de frutas e vegetais são os principais fatores de riscos para o desenvolvimento de doenças crônicas tais como: câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, hipertensão e obesidade [13]. Os compostos fenólicos, principalmente os flavonóides desempenham um papel dos mais relevantes na redução desses riscos [59]. São encontrados basicamente nas frutas e vegetais consumidos pelo homem.

Frutas, verduras e cereais em geral são orgânicos funcionais amplamente conhecidos por suas propriedades alimentares, nutritivas e terapêuticas. Além de excelentes fontes de vitaminas e sais minerais, as grandes maiorias das frutas vegetais e cereais exibem a presença de substâncias funcionais, ou seja, que apresentam ação medicinal com vários benefícios à saúde. Exemplos clássicos encontrados na literatura podem ser citados: são fatos cientificamente comprovados que os esquimós e os povos da floresta amazônica exibem baixos índices de doenças cardiovasculares devido a sua alimentação baseada em peixes e frutos do mar, ricos em ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 [59]. Os franceses igualmente apresentam baixos índices de problemas vasculares, devido ao alto consumo de uvas e vinhos tintos, ricos em compostos polifenólicos. Já as mulheres orientais exibem baixa incidência de câncer de mama, devido ao alto consumo de soja e seus produtos, ricos em fitos estrogênios e flavonas, polifenóis ricos em moléculas bioativas de alto valor terapêutico, como veremos ao longo de nosso trabalho. É amplamente conhecido a importância da “dieta do mediterrâneo” baseada no consumo cotidiano de peixes, frutas, verduras e cereais, e sua correlação direta com o baixo índice de todos os tipos de doenças degenerativas exibidas por aqueles povos [1].

Tem-se tornado cada vez mais intensas o desenvolvimento de pesquisas no campo dos alimentos funcionais, com ênfase naqueles ricos em ômega-3 e ômega-6, bem como naqueles ricos dos chamados carotenóides e nos polifenóis.

Estas duas últimas famílias de compostos orgânicos formam os mais amplos grupos de substâncias de origem vegetal riquíssimos em uma grande variedade de moléculas bioativas ou funcionais, cujas propriedades têm sido vinculadas à prevenção e tratamento de um conjunto de doenças que assolam cada vez mais o mundo contemporâneo tais como: o câncer de diversas espécies, Acidentes Vasculares Cerebrais (AVC's), doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão, enfermidades de diversos tipos como, por exemplo, a hepática, e toda a vasta gama de doenças inflamatórias [1].

Dentre a imensa gama de frutas e vegetais, cientificamente estabelecida como bioativas algumas se destacam por suas excelentes propriedades funcionais, tendo, por este motivo, recebido o nome pomposo de “superfrutas”. São elas caracterizadas por apresentarem altas concentrações de polifenóis tais como as antocianinas, os flavonóis, as quercetinas, kaempferol, resveratrol, os taninos, os ácidos fenólicos como o gálico, o ascórbico, o elágico, o clorogênico, o benzóico, o ferúlico, etc e os carotenóides onde se destacam o  $\beta$ -caroteno, licopeno, violaxantina, zeaxantina, luteína, neoaxantina, dentre outras. Em suma, as superfrutas são assim classificadas por exibirem extraordinário valor funcional.

A motivação desse nosso trabalho foi dar continuidade às pesquisas anteriores desenvolvidas no Laboratório de Espectroscopia Fotoacústica da Unidade Acadêmica de Física da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) em compostos orgânicos funcionais e testar a viabilidade do uso da técnica de Espectroscopia Fotoacústica (PAS) na investigação das propriedades físicas de Moléculas Bioativas e Funcionais, em frutas, verduras e vegetais, tarefa das mais difíceis, senão impossível, no caso de compostos orgânicos, por meio da Espectroscopia UV-visível convencional.

Além disso, foi buscar a identificação dos possíveis tipos de Biomoléculas Funcionais presentes nas frutas, verduras e vegetais, aproveitando o fato de que a técnica fotoacústica tem se mostrado muito útil e versátil na identificação de biomoléculas funcionais dos grupos dos carotenóides e dos flavonóides, cujos espectros fotoacústicos, principalmente na faixa UV-Visível do espectro eletromagnético, mostram não só um, mas diversos conjuntos de moléculas bioativas pertencentes a esses grupos.

Neste trabalho, as espécies selecionadas para investigação foram em primeiro lugar, três representativas da região norte do Brasil: o Açaí, o Cupuaçu e a Castanha do Brasil (Pará); duas típicas das regiões norte e nordeste: Acerola e o Caju e as outras mundiais como: a Uva Roxa, a Uva Preta, o Caqui, a Maçã vermelha, a Cebola Roxa, a Cenoura e o Tomate. Os principais motivos para tal escolha foram, a importância estabelecida de todas essas espécies no cenário alimentício brasileiro e mundial. Vejam que dentre as espécies selecionadas aqui se encontram três superfrutas (o Açaí, a Uva e a Castanha do Brasil), além do Tomate, riquíssimo em carotenóides (principalmente o licopeno) e tido na literatura científica como a espécie mais consumida e de uso popular em todo o mundo [59].

As diversas moléculas bioativas identificadas em nosso trabalho, usando a técnica PAS em espécies “in natura” pertencem, em sua grande maioria, ao grande grupo dos

polifenóis, notadamente moléculas do subgrupo flavonóides, tais como antocianinas, os flavonóis quercetina, resveratrol e o kaempferol, além de moléculas pertencentes ao subgrupo dos ácidos fenólicos tais como os ácidos ascórbico (vitamina C), gálico, clorogênico, felúrico, elágico e benzóico, todas presentes em maior ou menor intensidade em frutas, verduras e vegetais.

Por fim, outra motivação adicional neste trabalho é a mesma do nosso grupo de Espectroscopia Fotoacústica da UAF–UFMG: estabelecer a Espectroscopia Fotoacústica com uma técnica versátil e não destrutiva, pois opera em espécies orgânicas “in natura”, sem nenhuma necessidade de preparação e sem utilizar do dispendioso e caro processo de extração dos constituintes moleculares de cada espécie investigada, que é pouco explorado da física experimental no Brasil. Sendo que ela pode, também, ser empregada cooperativamente em outros ramos da ciência como a da saúde via alimentação e nutrição, propiciando novos conhecimentos a respeito das propriedades físicas de biomoléculas funcionais e assim, contribuir para a busca científica de novas espécies biológicas das quais nosso país tem o privilégio de ser produtor como é o caso do Açaí, o Cupuaçu, a Castanha do Brasil, a Jabuticaba e tantos outros frutos tropicais das mais variadas espécies que se tem ainda pouco ou nenhum conhecimento a respeito de suas propriedades funcionais, nutricionais, farmacêuticas e medicinais.

## 2. Revisão Bibliográfica

Neste capítulo, apresentaremos uma revisão dos grupos dos polifenóis com destaque para moléculas bioativas funcionais do reino vegetal, que fornecem inúmeros benefícios à saúde do ser humano.

### 2.1. Sistemas Biológicos (polifenóis)

Os polifenóis constituem um dos grupos mais amplamente distribuídos de substâncias fitoquímicas do reino vegetal, com mais de 8000 estruturas fenólicas conhecidas atualmente. Eles podem ser divididos em pelo menos 10 classes diferentes com base na sua estrutura química, variando a partir de moléculas simples com apenas um núcleo fenólico, como os ácidos fenólicos, indo até compostos altamente polimerizados, tais como os taninos [1].

Estruturalmente compostos polifenólicos são derivados da molécula de benzeno ( $C_6H_6$ ), com um ou mais grupos hidroxila substituintes, geralmente acompanhados por substituições funcionais tais como ésteres, metil, glicoses etc. Todos os polifenóis são formados a partir de uma estrutura básica ou “esqueleto” benzênico com uma ligação de hidroxila [1, 2], OH, conforme ilustrado na Figura 2.1. Sua estrutura varia da simples forma de uma molécula fenólica como o ácido ascórbico, passando por formas intermediárias como as que mostraremos na sequência, até formas de alta complexidade como polímeros de alta massa molecular.



Figura 2.1 – Estrutura básica (esqueleto) do Fenol.

### 2.2. O Grupo Flavonóide

Dentre os compostos polifenólicos os flavonóides são os mais comuns e importantes encontrados em produtos naturais. Os flavonóides podem ser subdivididos em várias

subclasses, das quais oito se destacam como as principais: flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonoides, antocianinas e proantocianidinas [3, 4].

Eles constituem também um dos mais diversificados grupos de moléculas bioativas funcionais do reino vegetal (plantas, frutos, cascas, sementes etc). A estrutura dos flavonoides é baseada em um núcleo 2-fenil-benzeno (flavano-pirano), composto de dois anéis benzênicos (A e B) aromáticos, conectados por um anel pirano contendo oxigênio. Conforme mostra a Figura 2.2 [4]. A figura 2.3 apresenta as estruturas de alguns flavonóides: flavonol, flavan-3-ol, flavona e antocianinas.

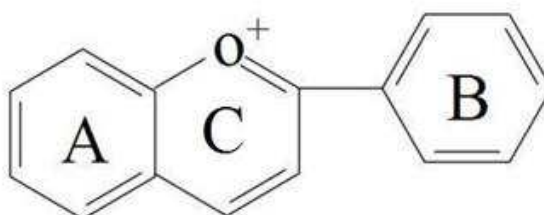


Figura 2.2 - Estrutura básica (Esqueleto) dos flavonóides.

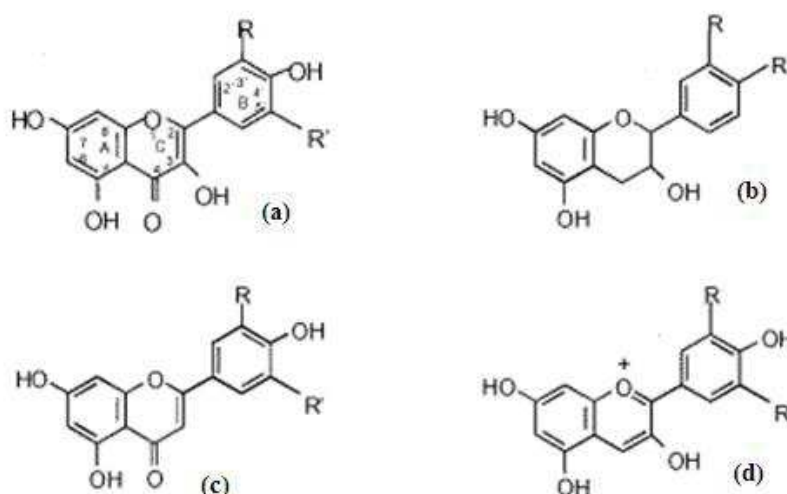


Figura 2.3 – Estrutura dos principais tipos de flavonóide: (a) flavonol, (b) flavan-3-ol, (c) flavona e (d) antocianinas.

Recentemente os flavonóides têm despertado grande interesse científico e tecnológico devido a sua vasta gama de efeitos biológicos benéficos à saúde. Grande variedade de biomoléculas desta família tem se mostrado potencialmente bioativas ou funcionais [5].

### 2.2.1. Flavonóis

O maior sub-grupo do grupo dos flavonóides no reino vegetal são os flavonóis [6], caracterizados pela presença de um grupo hidroxila na posição 3 (Figura 2.4). Cerca de 90% dos flavonóis têm hidroxila adicional nas posições cinco e sete.

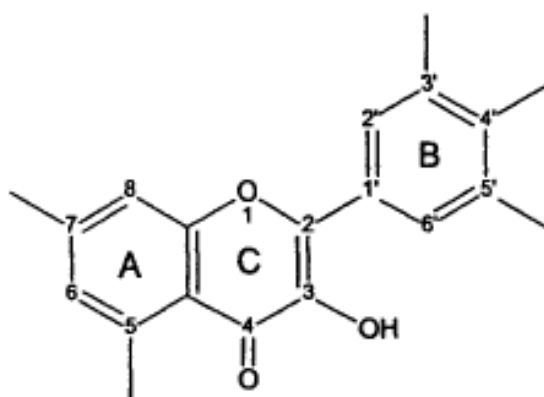


Figura 2.4 - Estrutura básica dos flavonóis com várias posições para hidroxilas (posição 3,5 e 7).

Flavonóis ocorrem principalmente como O-glicosídeos e a diversidade da porção glicosídea neste grupo é notável, com cerca de 200 estruturas não glicosiladas encontradas, sendo as mais comuns a quercetina, o kaempferol, mirecetina e rutina (Tabela 2.1). A composição estrutural dos flavonóis depende de um grande número de fatores ambientais [1, 2].

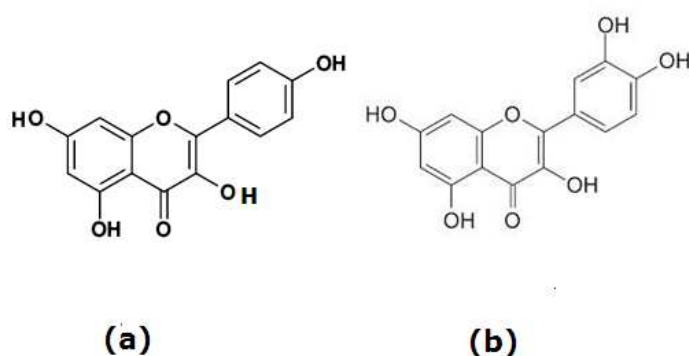


Figura 2.5 – Estrutura dos flavonóis: (a) kaempferol e (b) quercetina.

Tabela 2.1 – Os flavonóis mais comuns.

Nome Comum	Posição do Grupo OH	Substituto	Posição do Substituto
Agliconas			
Fisetina	3, 7, 3', 4'		
Galangina	3, 5, 7		
Kaempferol	3,5, 7, 4'		
Morina	3, 5, 7, 2', 4'		
Mirecetina	3, 5, 7, 3', 4', 5'		
Quercetina	3, 5, 7, 3', 4'		
Rhamnetina	3, 5, 3', 4'	OCH <sub>3</sub>	7
Glicosídeos			
Quercetina	5, 7, 3', 4'	O-Rh	3
Rutina	5, 7, 3', 4'	O-Ru	3

A substituição do grupo hidroxila OH pelos seus substitutos que esta na (Tabela 2.1) nas posições indicadas: rhamnetina substitui o OH por OCH<sub>3</sub> na posição 7, quercetina substitui o OH por O–Rh na posição 3 e rutina substitui o OH por O–Ru na posição 3 (Figura 2.4).

Os flavonóis estão presentes em alimentos de origem vegetal, principalmente nas folhas, frutos e nas partes externas das plantas. A quercetina e seus glicosídeos estão presentes em todas as frutas e vegetais. Inversamente, kaempferol e mirecetina são menos distribuídas (Tabela 2.2) [4, 5]. Os glicosídeos de quercetina foram detectados nas cebolas (quercetina–4'–glucosídeo e quercetina–3–4'–diglucosídeo), brócolis (quercetina–3–O–sophorosídeo, kaempferol–3–7–sophorosídeo), feijões verdes (quercetina–3–O–glucuronídeo) e tomate (rutina = quercetina–3–O–rhamnosyl–glucósido), vinho tinto (rutina) e chá (rutina, quercetina–3–7–glucósido e quercetina–O–galactósido) [6, 7].

Preparação de frutas e verduras para o consumo (descamação, esfoliação e cozimento) pode diminuir o conteúdo de quercetina e kaempferol significativamente. Por exemplo, ferver, cozinhar no microondas e frituras das cebolas ou tomates envolve uma redução no teor de flavonóides de 30 a 80% [6, 7, 8].

Tabela 2.2 – Concentração de flavonóis (expressa em mg/kg ) em alguns alimentos, determinados pelos métodos HPLC após hidrólise dos seus glicosídeos [4, 5].

<b>Alimentos</b>	<b>Quercetina</b>	<b>Kaempferol</b>	<b>Miricetina</b>
Maçã	20 - 36	-	-
Damasco	25	-	-
Feijão	39	< 12	-
Brócolis	30 - 37	60 - 72	-
Chicória	< 1,3	46	-
Uva Preta	15 - 37	-	4,5
Uva Branca	02 - 12	-	4,5
Suco de Uva (mg/l)	4,4	-	6,2
Couve	110 - 120	210 - 470	-
Alho Porró	-	30	-
Alface	14 - 79	-	-
Cebola	340 - 347	-	-
Suco de laranja (mg/l)	5,7	-	-
Morango	6 - 9	5 - 17	-
Chá Preto (mg/l)	14 - 17	14 - 16	3,0
Tomate	2 - 14	-	-
Tomate Cereja	63	-	-
Vinho Tinto (mg/l)	8,3	-	7,9

### 2.2.2. Quercetina

Dados de Espectroscopia Ótica convencional de quercetina extraídos da literatura [9, 10] mostram que três bandas de absorção bem características identificam com boa fidelidade moléculas de quercetina e seus glicosídeos. Essas três bandas de absorção estão localizadas nas regiões UV (256; ~300; 384) nm, não exibindo banda de absorção no visível. Há cálculos de Teoria de Orbital Molecular (TOM) que indicam a existência dessas três bandas de absorção, conforme mostrado abaixo:

- Quercetina (Teoria) .....  $\lambda_{\text{máx}}$  (256 ; 312 ; 384) nm;
- Quercetina EXP..... $\lambda_{\text{máx}}$  (256; ~300-305 , 374-384) nm;
- Quercetina-3-O-gluc. EXP..... $\lambda_{\text{máx}}$  (216 ; 273 ; 363) nm.



A quercetina pura bem como a quercetina glicosada foram detectadas e identificadas em diversas amostras de frutas e vegetais investigadas em nosso trabalho, conforme mostraremos no Capítulo 5.

### 2.2.3. Kaempferol

O kaempferol é uma biomolécula similar a da quercetina. Difere desta pela ausência de uma hidroxila na posição 3', conforme ilustrado na Figura 2.5. Geralmente é detectada em plantas (frutas, vegetais e chás) na forma glicosada. Como a quercetina, o espectro do kaempferol exibe três bandas de absorção, localizado na região UV (entre 260, 360 nm) e, como na quercetina, não exibindo banda de absorção no visível, conforme dados abaixo apresentados [9, 10]:

- Kaempferol:  $\lambda_{\text{máx}}$  (262 ; 318 ; 346) nm;
- Kaempferol-3-glucoside.:  $\lambda_{\text{máx}}$  (255 ; 350) nm ; (262 ; 318 ; 346) nm;
- Kaempferol-3-arabnoside:  $\lambda_{\text{máx}}$  (265 ; ~320 ; 352) nm;
- Kaempferol-3-rhamnoside:  $\lambda_{\text{máx}}$  (264 ; ~320 ; 343) nm;
- Kaempferol-3-rutinoside:  $\lambda_{\text{máx}}$  (263 ; ~320 ; 346-350) nm.

### 2.2.4. Resveratrol

O resveratrol é um polifenol como a quercetina e o kaempferol, encontrado principalmente nas sementes de uvas, na película das uvas pretas e no vinho tinto. É tido como um potencial redutor do mau colesterol nas artérias coronárias. Além do mais, estudo recente também tem demonstrado efeitos benéficos do resveratrol na prevenção de câncer [11].

Dados de Espectroscopia Ótica no UV-Vis do resveratrol mostram que esta biomolécula exibe duas bandas de absorção situadas entre (220 – 230) nm e (300-340) nm.

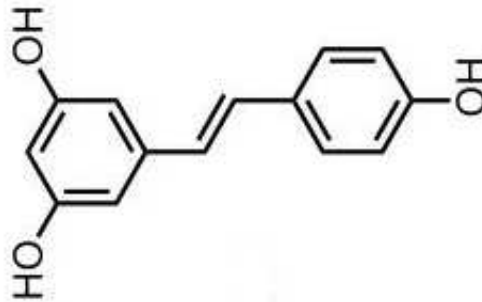


Figura 2.6 – Estrutura básica do resveratrol.

### 2.2.5. Algumas propriedades dos flavonóis

Estudos “in vivo” têm demonstrado que a ingestão de moléculas flavonóis como a quercetina, o kaempferol e o resveratrol aumentam a resistência à oxidação do mau colesterol LDL [12].

Sabe-se hoje em dia que doenças cardiovasculares são devidas basicamente a estados avançados de arteriosclerose e o principal passo para a arteriosclerose é exatamente a modificação oxidativa do LDL. Muitos flavonóides como esses inibem a segregação do colesterol LDL nas paredes arteriais, minimizando assim os riscos de trombozes, AVC e infarto do miocárdio [11, 13].

### 2.2.6. Flavonas

Flavonas diferem dos flavonóis pelo fato de o grupo hidroxila na posição 3 do anel C estar ausente. Como mostra a (Figura 2.3 c).

Cerca de 300 diferentes agliconas já foram identificadas e as mais frequentes são luteolina, apigenina (especialmente na salsa) e diosmetina (em frutas cítricas) [3]. Entre os glicosídeos, o 7-O-C são formas muito comuns e são caracterizados por uma ligação carbono-carbono entre o carbono anomérico de uma molécula de açúcar no C<sub>6</sub> ou C<sub>8</sub> de carbono do núcleo flavona. As flavonas contribuem para a cor dos tecidos, desde que eles ocorrem em concentrações elevadas ou são completos com íons de metal. Algumas flavonas são

responsáveis pelo sabor amargo da casca de frutas cítricas. Por outro lado, algumas flavonas glicosiladas reduzem o sabor amargo de algumas substâncias [3].

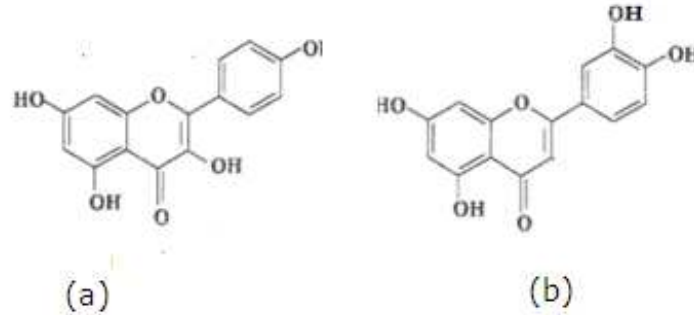


Figura 2.7 – Estruturas das duas flavonas mais comuns: (a) Apigenina e (b) luteolina.

### 2.2.7. Isoflavonas

As isoflavonas são uma classe distinta de flavonóides que estruturalmente diferem das flavonas mais comuns na orientação do anel B (Figura 2.8).

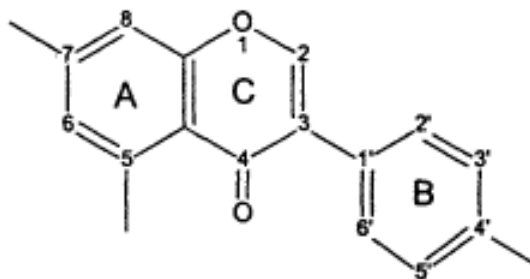


Figura 2.8 – Estrutura básica de isoflavonas.

Isoflavonas são compostos orgânicos naturais de origem vegetal, pouco distribuídas na natureza, presentes principalmente na família Fabaceae, sendo abundantes na soja e em seus derivados. Estruturalmente podem ser consideradas como derivados da 3-fenilcromana [3].

### 2.2.8. Antocianinas

São derivadas de sais flavílicos, as antocianidinas, solúveis em água e que na natureza estão associadas a moléculas de açúcar, denominando-se neste caso, antocianinas [14, 15]. São pigmentos pertencentes ao grupo dos flavonóides, responsáveis por uma grande variedade de cores em frutas, flores e folhas que vão do vermelho-alaranjado, ao vermelho vivo, roxo e azul. Em particular, são as responsáveis pela cor rubi-violácea (cor "bordô") do vinho tinto jovem. Sua função é de proteção das plantas, flores e frutos contra a luz ultravioleta (UV) e, em humanos, de combate aos radicais livres [16, 17, 18]. São geralmente encontradas na forma de glicosídeos, facilmente hidrolisados por aquecimento em meio ácido, resultando em açúcares e agliconas, denominadas antocianidinas.

As antocianinas, assim como os flavonóis, são consideradas como a família mais extensa e mais importante de biomoléculas do grupo flavonóide. Elas são pigmentos, pois absorvem na região UV- visível (entre 280 nm e 550 nm) sendo por isto responsável pelas cores roxas de uma grande variedade de sistemas biológicos que compõem a dieta animal incluindo a humana [16, 17, 18].

Geralmente frutas, verduras, cereais e vegetais ricos em antocianinas exibem as cores avermelhada, violeta e roxas. A grande atenção despertada pelas antocianinas tem como ponto de referência o famoso "Paradoxo Francês" [19] que leva em consideração a sugestão de que as antocianinas presentes no vinho tinto podem ser os agentes protetores contra doenças coronarianas cardíacas. No ano de 1991 foi publicado no British Medical Journal, um estudo dos pesquisadores Dr. Serge Renaude e o Dr. Lorgeiril, da Universidade de Bordeaux, com 34.000 homens. Lá se constatou que, mesmo com uma dieta repleta de gorduras, o povo francês sofria menos problemas coronários e se mostravam comparativamente menos gordos do que seus vizinhos Europeus e, principalmente, os Americanos. A conclusão do trabalho atribui a esse fenômeno o fato dos franceses possuírem o hábito de tomar vinho diariamente durante suas refeições [19].

As antocianinas apresentam como estrutura básica o cátion 2-fenilbenzopirílio ou, mais simplificadamente, cátion flavílio [1]. As diferentes antocianinas diferem apenas nos grupamentos ligados aos anéis nas posições 3' (R1), 4' (R2), 5' (R3), 3 (R4), 5 (R5), 6 (R6) e 7 (R7), que podem ser átomos de hidrogênio ou os grupos funcionais OH (hidroxilas) e OCH<sub>3</sub>, que podemos observar na Figura 2.9.a. Na Figura 2.9.b temos as seis principais antocianidinas, classificadas de acordo com as posições que os grupos H, OH e OCH<sub>3</sub> ocupam

na estrutura básica. São elas: pelargonidina, cianidina, peonidina, petunidina, delphinidina e malvidina. Quando a molécula de glucose se acopla às antocianidinas (geralmente na posição 3) forma as correspondentes antocianinas. Assim temos as antocianinas, que são as antocianidinas-3-glucosadas, comumente encontradas nas frutas, verduras, ortalijas e vegetais. (Figura 2.10).

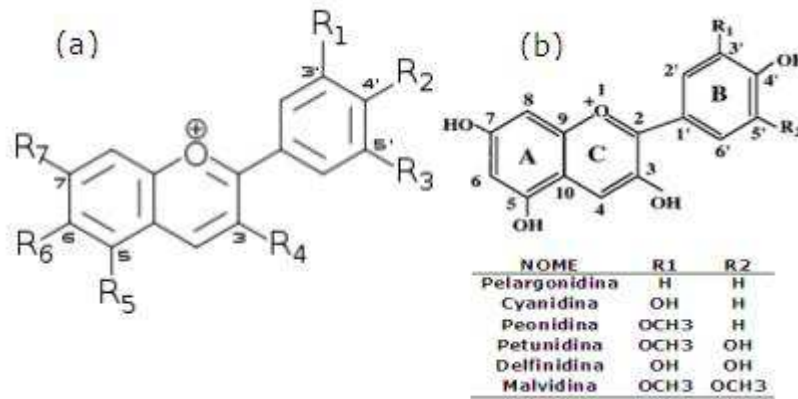


Figura 2.9 – Estrutura básica das seis principais Antocianidinas.

A glicose é uma aldo-hexose de fórmula  $C_6H_{12}O_6$ , cuja estrutura pode se apresentar na forma de cadeia fechada ou aberta, como visto na Figura 2.10. É encontrada principalmente em uvas e frutos.

A Tabela 2.3 apresenta a concentração de polifenóis em diversas frutas tropicais existentes no Brasil [1].

Tabela 2.3 – Concentração de polifenóis em diversas espécies de Frutas Tropicais Brasileiras.

Frutas Tropicais	Concentração de Polifenóis (mg/100g)	Frutas Tropicais	Concentração de Polifenóis (mg/100g)
Sabugueiro	1.365	Jaboticaba	450
Camu-Camu	1.170	Repolho Roxo	322
Acerola	1.063	Amora	245
Puçá (preto)	870	Mangaba	171
Framboesa	685	Ameixa	125
Murta	610	Caju	120
Gurguri	550	Rabanete	100
Groselha	475	Berinjela	85
Mirtilo (Aranto)	462	Cajá	72
Açaí	450	Morango	22

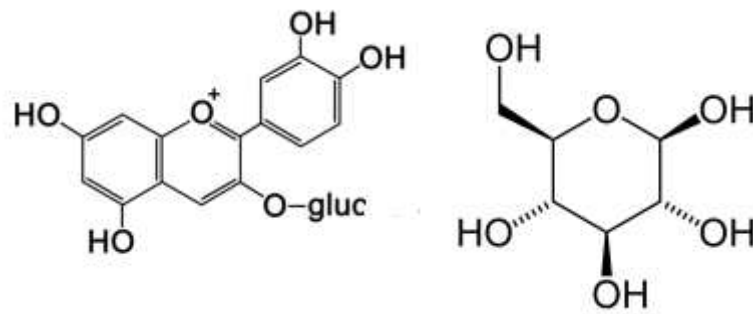


Figura 2.70 – Estrutura básica de uma antocianina glucosada.

### 2.2.9. Catequina

As catequinas são substâncias polifenólicas antioxidantes, encontradas em algumas plantas e em seus caules. O termo catequina é usado comumente para se referir a família dos flavonóides, do subgrupo flavan-3-ol. A Figura 2.11 ilustra a estrutura básica da epicatequina e da catequina.

As unidades monoméricas (-) – epicatequinas e (+) – catequina juntas formam polímeros que levam os nomes de B1, B2, B3, B4 procianidinas [1, 9].

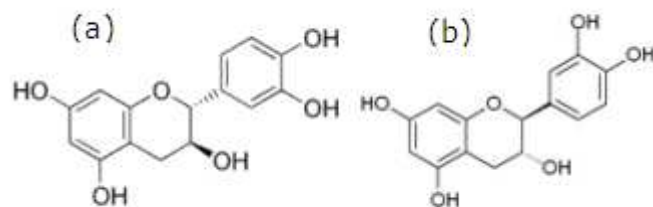


Figura 2.81 – Estrutura das: (a) epicatequina e (b) catequina.

### 2.2.10. Proantocianinas (Taninos condensados)

Os taninos são conhecidos como compostos polifenólicos que se encontram em vegetais superiores (Figura 2,12).

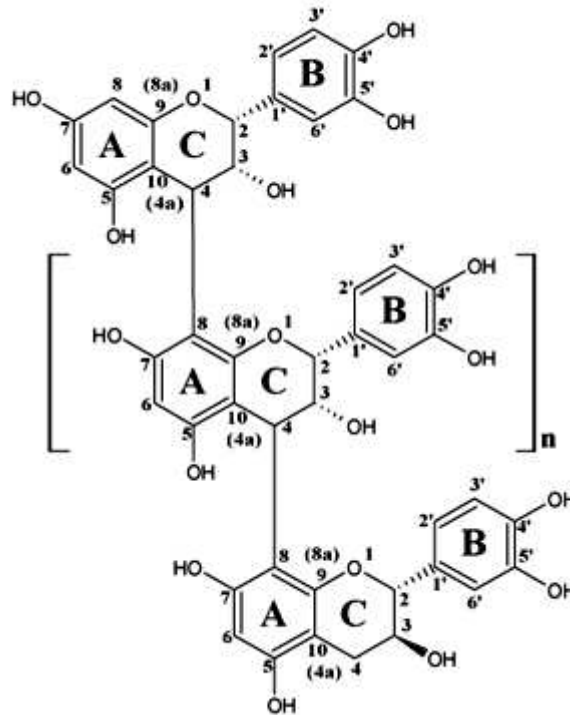


Figura 2.12 – Ligações C-C que unem as estruturas da flavona-3-ol formando o tanino condensado.

Os taninos condensados ou proantocianidinas são polímeros da família flavonoide do tipo flavona-3-ol, (+) – catequinas e (–) – epicatequinas, unidas por ligações carbono-carbono (C–C). Esses compostos podem ter de duas a cinquenta unidades flavonóides [9, 12].

Sua principal característica é a alta capacidade de associação com proteínas e carboidratos e eles possuem qualidades nutrientes e são responsáveis pelo sabor adstringente dos alimentos [11, 20].

### 2.3. Algumas propriedades das antocianinas

Estudos diversos “in vivo” e “in vitro” têm mostrado que as antocianinas, assim como as quercetinas, kaempferol, resveratrol, as catequinas e os taninos exibem diversas propriedades fito terapêuticas, são moléculas bioativas antioxidantes, portanto, eficazes no combate aos radicais livres [21, 22], algumas são eficazes no combate ao mau colesterol (LDL), aumentam o nível de bom colesterol (HDL), se constituindo em potentes vasos protetores, enquanto outras exibem propriedades anticancerígenas [23]. Isto equivale a dizer

que poderão ser agentes inibidores eficazes de processos inflamatórios [21]. Em adição, estudos recentes [23, 24, 25] demonstraram a eficácia das antocianinas no tratamento de retinopatia devido a diabetes tipo 2, bem como exibem efeitos positivos sobre a visão, além de se constituírem em agentes protetores contra a radiação solar [26].

Essas moléculas bioativas do grupo flavonóide, como já dissemos, estão presentes numa grande variedade de plantas alimentícias (frutas, verduras e vegetais), principalmente as antocianinas e as quercetinas e, em menor escala, o kaempferol e o resveratrol. Elas podem ser encontradas nesses sistemas biológicos “in natura” tanto na forma pura como glicosada.

Um espectro quer seja de Espectroscopia Ótica UV–visível (biomoléculas “in stricta”), quer seja de Espectroscopia Fotoacústica no UV–visível (amostras “in natura”) fornece informações importantes a respeito das transições eletrônicas entre níveis de orbitais moleculares e permitem a identificação espectral de moléculas orgânicas dos mais variados tipos.

Dados de Espectroscopia Ótica convencional de antocianinas extraídos da literatura mostram que duas bandas de absorção bem características identificam com boa fidelidade, moléculas de antocianinas. Essas duas bandas de absorção estão localizadas nas regiões UV (260 a 280 nm) e no visível (entre 490 e 550 nm) do espectro eletromagnético e se encontram presentes em todas as antocianinas. As diferentes moléculas de antocianinas exibem todas elas picos de absorção  $\lambda_{\max}$  em diferentes comprimentos de onda, variando de ~500 nm na pelargonidina a 546 nm na malvinidina.

Vamos apresentar neste trabalho, que as seis principais antocianinas podem ser identificadas por PAS em amostra “in natura”, sem nenhuma necessidade de extração ou preparação de amostra. Tal fato é completamente inviável de obter usando-se Espectroscopia Ótica UV–Vis Convencional. [10, 13]. Além dessas, diversas outras biomoléculas como ácidos fenólicos, catequinas, quercetinas, kaempferol, resveratrol e outras mais, foram também identificadas em compostos biológicos funcionais “in natura”, usando a técnica PAS.



### 2.3.1. Biomoléculas de Antocianinas

Usaremos os comprimentos de ondas  $\lambda_{\max}$  constantes na Tabela 2.4 como padrão para caracterizar as biomoléculas funcionais de antocianinas [1] através da técnica fotoacústica PAS.

Tabela 2.4 – Espécies de Antocianinas com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{\max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV-visível Convencional [4, 5].

Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV – vis		
Pelargonidina – 3 – gluc	267/280	313/325	495/505
Cianidina – 3 – gluc	278/280	312/329	510/515
Peonidina – 3 – gluc	280	311	515/520
Petunidina – 3 – gluc	280	305	520/530
Delfinidina – 3 – gluc	235/271	277/336	530/540
Malvinidina – 3 – gluc	280	312	540/545

### 2.3.2. Biomoléculas de Flavonóis e Flavonas

Usaremos os comprimentos de ondas  $\lambda_{\max}$  constantes nas Tabelas 2.5 como padrão para caracterizar as biomoléculas funcionais de flavonóis e flavonas através da técnica fotoacústica PAS.

Tabela 2.5 – Espécies de flavonóis e flavonas com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{\max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV–Vis Convencional [4, 5].

Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV–Vis		
<b>Flavonois</b>			
(+) - Catequina	230	278	
(-) - Epicatequina	229	276	
Piranicianidina B	252	340	472,5
Miricetina	256	354,4	372
Miricetina-3-gluc	258	267	358
Orientina	255	267	346
Homoorientina	255	271	350
Quercetina	256	300/312	374/384
Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363
Rutina	256	266	355/358
Isoquercetina	262		350
Kaempferol	262	318	346/363
Kaempferol-3-gluc	238	255/262	346/350
Resveratrol	220/230	300/340	
<b>Flavona</b>			
Apigenina-3-gluc		271	336
Luteolina	254	346	
Taxifolina/Deoxyhexose	295	340	
Proantocianina	217/220	265/270	280
Taninos Condensados			
Procianidinas	280	464	546
Betacarotene	425	450/451	478/482
Luteína	420	443	471

### 2.3.3. Ácidos Fenólicos

Os ácidos fenólicos, observados geralmente em compostos fenólicos, são caracterizados por um grupo funcional carboxila e duas redes de carbono, o hidroxicinâmico e o hidroxibenzólico, comumente substituído com um ou mais grupos hidroxilas, como podemos observar nas Figuras 2.13 e 2.14.

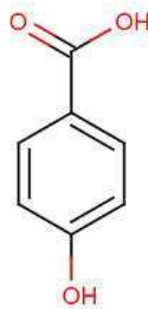


Figura 2.9 – Estrutura de ácidos hidroxibenzólico.

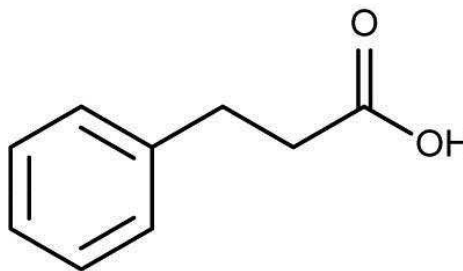


Figura 2.10 – Estrutura (C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>) de ácidos hidrocinâmicos.

Os ácidos fenólicos mais comuns encontrados em compostos fenólicos e os respectivos  $\lambda_{\max}$  dos picos observados estão dispostos na Tabela 2.6.

Tabela 2.6 – Espécies de ácidos fenólicos com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{\max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV-Visível Convencional [4, 5].

Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis		
<b>Ácidos Fenólicos</b>			
Ascórbico (Vit. C)	265	267	
Benzóico	247	367	
Cafeico	248/242	334/320	
Cinâmico	245	278	
Clorogênico	246/248	318/322	326
Cumárico	238	310	
Dibenzóico		306	
Elágico	253	367	
Ferúlico	248	323	
Gálico	239	271	
Vanílico	238	270	

Os ácidos fenólicos são importantes para a saúde por apresentarem potenciais benefícios tais como: atividades antioxidantes, antibacterianas, antiviral, anti-inflamatória e anticarcinogênicos.

### 2.3.4. Carotenóides

O  $\beta$ -caroteno, licopeno, zeaxantina, violaxantina, luteína, neoaxantina, capsantina e Capsorubina [27] são os principais representantes de moléculas bioativas da configuração dos carotenóides, complexos fotossintéticos conhecidos como protetores contra danos induzidos pelos fótons de luz. Eles são compostos naturais em frutas, vegetais, hortaliças e cereais. Suas funções primárias são: fotossíntese, foto protetores, antioxidantes, anticancerígenos.

Uma fruta que é riquíssima em flavonóides e carotenóides é o cajú. É uma fruta tipicamente brasileira com forte presença na região nordeste onde é amplamente cultivada, e dela aproveita-se tudo, castanha, suco e polpa.

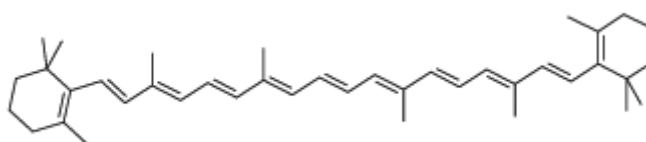


Figura 2.11 –  $\beta$ - caroteno  $C_{40}H_{56}$ .

A Tabela 2.7 apresenta algumas espécies de carotenóides e os respectivos comprimentos de onda referentes aos picos de absorção.

Tabela 2.7 – Espécies de Carotenóides com os respectivos comprimentos de onda de pico ( $\lambda_{max}$ ), obtidos por Espectroscopia UV-Visível Convencional [27].

Moléculas	$\lambda_{max}$ (nm) UV - vis		
Carotenóides			
Neoaxantina	416	438	468
Violaxantina	412/415	435	464
Licopeno	443	472	502
Luteína	420	444/447	472
Zeaxantina	423	448	482
$\beta$ - Caroteno	425	451	482

Conduzimos investigações para detectar a presença de flavonóides em frutas e vegetais, usando a PAS, uma técnica física rápida, sensível e não destrutiva.

Como vimos, são biomoléculas ativas para o nosso sistema biológico. Aplicamos a técnica PAS em nossas amostras de produtos alimentícios funcionais, ricos em biomoléculas que tem o importante papel de contribuir para uma melhor qualidade de vida, melhorando a saúde das pessoas. Nossos resultados evidenciam a PAS como potencial técnica para a caracterização de biomoléculas funcionais em materiais biológicos em geral tais como vegetais verduras e frutas de alto valor nutritivo, medicinal e farmacêutico.

### 3. Aspectos Teóricos

Neste capítulo, apresentaremos os principais aspectos teóricos sobre Teoria de Orbitais Moleculares (TOM), que descreve a estrutura eletrônica das moléculas orgânicas e fornece a base teórica necessária ao entendimento e interpretação de nossos dados experimentais apresentados nesse trabalho.

#### 3.1. Teoria de Orbitais Moleculares (TOM)

Na TOM os orbitais de uma molécula são construídos a partir da superposição de orbitais dos átomos constituintes que satisfazem os seguintes pré-requisitos [28, 29]: a) os orbitais atômicos possuem simetria compatível, e b) os orbitais atômicos são de energias similares.

A interação dos orbitais atômicos para formar orbitais moleculares é representada por um diagrama de energia chamado Diagrama de Orbitais Moleculares (DOM). Um DOM exibe os orbitais arranjados verticalmente, da mais baixa para mais alta energia. Os orbitais atômicos envolvidos são dispostos em colunas à esquerda e a direita do diagrama, conforme mostram diversas figuras mais adiante neste tópico.

Os orbitais atômicos carregam a designação usual  $s$ ,  $p_x$ ,  $p_y$ ,  $p_z$ . Já orbitais moleculares são dispostos em colunas abaixo no centro do diagrama, e são definidos em função de suas propriedades de simetria. Eles são identificados a partir de suas propriedades de ligação e denominados:  $\sigma$ ,  $\sigma^*$ ,  $\pi$ ,  $\pi^*$  e  $n$ , onde  $\sigma$  rotulam os orbitais moleculares originários dos orbitais atômicos  $s$  e  $p_z$ , enquanto  $\pi$  rotula os orbitais moleculares originários dos orbitais atômicos  $p_x$  e  $p_y$ ,  $\pi^*$  rotula os orbitais antiligantes. Orbitais atômicos ou moleculares são lugares no espaço onde os elétrons podem ser encontrados.

Sempre que dois orbitais atômicos se misturam, dois orbitais moleculares são formados, um orbital ligante ( $\sigma$  ou  $\pi$ ) de energia mais baixa e outro antiligante ( $\sigma^*$  ou  $\pi^*$ ) de energia mais alta do que a energia total dos átomos não ligados.

Então, ao compartilhar elétrons, moléculas formam ligações e é possível considerar o compartilhamento de dois elétrons por dois átomos como sendo uma ligação química. Os átomos numa molécula podem compartilhar um, dois, três elétrons, formando ligações simples, duplas ou triplas, etc.

Em física, fenômenos periódicos como o movimento eletrônico em torno do núcleo vêm associados a uma “função de onda” que obedece à equação fundamental da mecânica quântica, a “Equação de Schroedinger”.

Em átomos, os elétrons ocupam orbitais atômicos. Em moléculas os elétrons ocupam orbitais construídos a partir destes, e são chamados orbitais moleculares. A principal teoria que trata a física de moléculas chama-se Teoria de Orbitais Moleculares (TOM) que passaremos a discutir e aplicar a alguns tipos de moléculas.

A técnica experimental mais simples e eficiente no estudo de transições eletrônicas moleculares chama-se Espectroscopia Molecular UV-Visível. Obtendo-se o espectro UV-Visível de uma molécula, podemos determinar os comprimentos de onda,  $\lambda_{\max}$ , nos quais ela absorve luz. Um espectro UV-Visível mede a absorbância como uma função do comprimento de onda.

Outra grandeza obtida do espectro UV-Vis é o coeficiente de extinção molar  $\epsilon$ , que é a medida de intensidade que a amostra absorve radiação UV-Visível, sendo uma constante típica de cada molécula. Neste trabalho usamos ao invés da Espectroscopia UV-Visível convencional, a PAS no UV-Visível na investigação de Biomoléculas Funcionais em compostos orgânicos alimentícios tais como frutas e vegetais “in natura”.

### **3.1.1. TOM para moléculas conjugadas**

A solução quantum-mecânica de um átomo resulta em níveis discretos de energia e orbitais atômicos espacialmente discretos. É a partir daí que são estudadas soluções para a descrição de moléculas, entidades resultantes de arranjos de átomos ligados entre si, formando uma estrutura molecular. Conhecendo-se as forças que mantêm os átomos ligados numa molécula é possível entender porque arranjos atômicos, sob certas condições, mudam de um estado para outro, são as reações químicas.

As tentativas de descrição da estrutura molecular resultaram em dois tipos: Teoria dos Orbitais Moleculares (TOM) e Teoria das Ligações de Valência (VBT) [30, 31].

Neste trabalho vamos nos ater a de TOM, por ser a melhor teoria que se aplica extensivamente na descrição da estrutura molecular e o de mais fácil compreensão.

A TOM parte da hipótese de que os elétrons atômicos não pertencem mais a uma ligação particular, mas são tratados como que espalhados pela molécula inteira. Esta teoria é a mais recentemente desenvolvida e fornece uma descrição aproximada, porém, satisfatória dos orbitais moleculares, sendo amplamente usada nas discussões mais atuais.

### 3.1.2. Moléculas diatômicas homonucleares tipo 2

Antes de descrevermos a TOM para moléculas mais complexas, possuindo elevado número de átomos e elétrons, vamos primeiramente descrever sumariamente a TOM para moléculas mais simples, as moléculas diatômicas homonucleares do tipo 2, aquelas formadas a partir de dois átomos idênticos possuindo elétrons s e p como, por exemplo, C<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, F<sub>2</sub> etc.

Significa que os orbitais 2s e 2p devem ser utilizados em casos de moléculas que possuem elétrons s e p. Aqui se incluem todas as moléculas orgânicas contendo carbono, oxigênio, nitrogênio, cloro etc. Os orbitais de valência são os 2s e 2p, os únicos a participarem da construção dos orbitais moleculares. Na primeira é que teremos orbitais moleculares associados aos elétrons 2s, denominados orbitais- $\sigma$ , como no caso anterior, e orbitais moleculares associados aos elétrons 2p, denominados orbitais- $\pi$ . Neste caso, os orbitais p<sub>z</sub> que têm simetria cilíndrica em torno do eixo internuclear, são incluídos também como orbitais- $\sigma$ . A estrutura eletrônica do Carbono é: He [2s<sup>2</sup> 2p<sub>x</sub><sup>1</sup>2p<sub>y</sub><sup>1</sup>]. Conseqüentemente, moléculas contendo carbono naturalmente possuem orbitais- $\sigma$ , formados a partir de elétron s e orbitais p<sub>z</sub> de mesma simetria e orbitais- $\pi$  formados a partir de orbitais atômicos p<sub>x</sub> e p<sub>y</sub>.

A primeira regra geral aplicada na construção dos Orbitais Moleculares (OM) é que, só elétron de valência (2s e 2p) contribui para a formação dos orbitais moleculares.

Na segunda regra é que todos os orbitais atômicos de simetria apropriada contribuem para os orbitais moleculares.

Orbitais- $\sigma$ : - São construídos a partir de uma combinação linear de todos os orbitais atômicos que possuem simetria cilíndrica em torno do eixo internuclear. Para moléculas que só têm elétrons de valência tipo s e p, os orbitais s e a componente de p escolhido na direção do eixo internuclear, p<sub>z</sub>, exibem simetria cilíndrica em relação a esse eixo.



Orbitais- $\pi$ : - Os orbitais moleculares denominados  $\pi$  são construídos a partir de dois orbitais atômicos  $p_x$  e  $p_y$ , pertencentes a cada um dos átomos idênticos da molécula diatômica homonuclear. Os orbitais  $2p_x$  se combinam para formar orbitais moleculares ligantes ( $\pi_x$ ) e antiligantes ( $\pi_x^*$ ) com simetria rotacional- $\pi$  em torno do eixo da ligação.

Os orbitais  $2p_y$  se combinam para formar também orbitais ligantes e antiligantes ( $\pi_y$ ,  $\pi_y^*$ ) a  $90^\circ$  do primeiro conjunto de orbitais. Os dois orbitais ligantes ( $\pi$ ) e os dois orbitais antiligantes ( $\pi^*$ ) são pares de orbitais degenerados e têm forma como ilustrada na Figura 3.1.

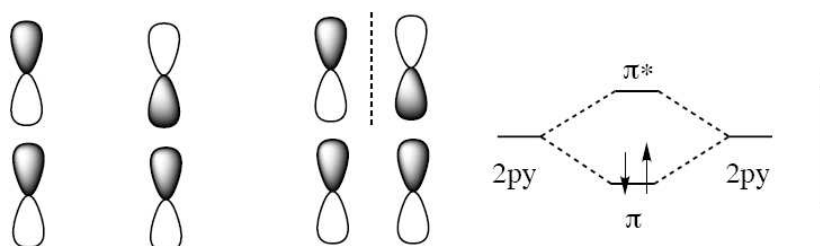


Figura 3.1 – Orbitais ( $\pi$ ,  $\pi^*$ ) formados a partir de Orbitais Atômicos  $p_x$  e  $p_y$ . Tais ligações têm plano de simetria perpendicular ao plano da molécula [29].

Esses orbitais são perpendiculares ao eixo internuclear da molécula. Eles podem superpor-se de modo construtivo ou destrutivo, formando os chamados orbitais ligantes ( $\pi$ ) e antiligantes ( $\pi^*$ ), respectivamente, da forma esquematizada na Figura 3.2. O rótulo  $\pi$  foi adotado simplesmente para ficar análogo ao rótulo  $p$  nos orbitais atômicos. Quando visto ao longo do eixo da molécula, um orbital  $\pi$  se parece com o correspondente orbital atômico  $p$ . Os dois orbitais  $p_x$  se superpõem construtiva e destrutivamente, formando os orbitais moleculares  $\pi_x$  ( $1\pi_x$ ,  $2\pi_x^*$ ) enquanto que os orbitais atômicos  $p_y$  se superpõem construtiva e destrutivamente, formando os orbitais moleculares  $\pi_y$  ( $1\pi_y$ ,  $2\pi_y^*$ ), porém, ambos os orbitais ligantes são degenerados, assim como também os orbitais antiligantes, de tal modo que a notação destes orbitais- $\pi$  pode ser simplificada para: orbitais- $\pi$  ligantes:  $2\pi$ ,  $3\pi$ ,  $4\pi$  ... e orbitais- $\pi^*$  antiligantes:  $2\pi^*$ ,  $3\pi^*$ ,  $4\pi^*$  etc, onde  $n$  é o número inteiro principal que define apenas a ordem do respectivo orbital atômico considerado na superposição.

Em geral a seguinte regra, quanto à ordem de energia, é verificada em transições eletrônicas UV-Visível: é  $\sigma < \pi < n < \pi^* < \sigma^*$ , como mostra a Figura 3.2.

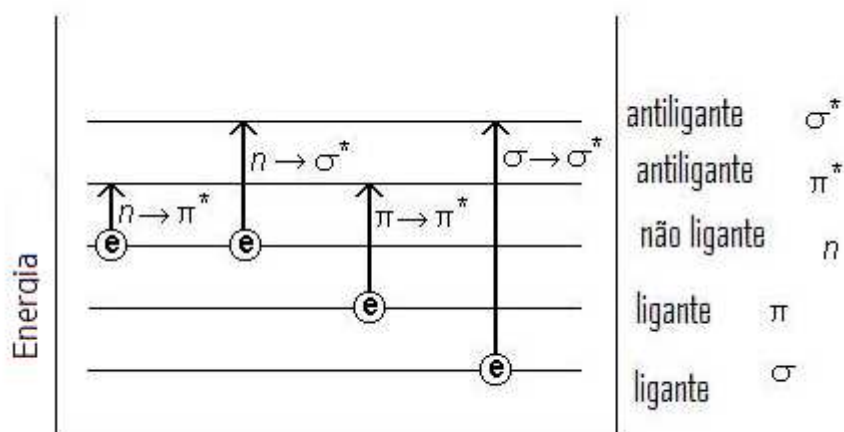


Figura 3.2 – Diagrama genérico de orbitais moleculares e possíveis transições UV-Vis em moléculas diatômicas heteronucleares [29].

O rótulo “ $\pi$ ” descreve a simetria do OM correspondente. Orbitais moleculares  $\pi$  e  $\pi^*$  são simétricos em relação à um plano de simetria. Não têm eixo de simetria como os OM- $\sigma$ .

### 3.2. Moléculas poliatômicas – (Heteronucleares)

A TOM para moléculas poliatômicas foi desenvolvida de modo muito parecido com aquela para moléculas diatômicas. Uma diferença entre os dois casos é que aqui, mais orbitais atômicos participam na superposição para a construção dos orbitais moleculares.

Outra diferença é que, em certas moléculas poliatômicas, o processo de hibridização dificulta a obtenção dos orbitais moleculares a partir de uma combinação linear simples de orbitais atômicos. Muitas vezes este procedimento não reproduz geometricamente a molécula. No caso de moléculas orgânicas existem dois tipos de elétrons responsáveis pela absorção no UV-Visível:

- a) Elétrons compartilhados – Aqueles que participam em conjunto e diretamente da formação da ligação;
- b) Elétrons não compartilhados de camadas mais externas que são altamente localizados nos átomos individuais.

De um lado, os elétrons compartilhados em ligações simples, estão em geral, fortemente ligados de modo que a absorção ocorre via fótons mais altamente energéticos do que o UV normal.

Por outro lado, elétrons compartilhados em ligações duplas ou triplas estão menos ligados do que no caso simples, portanto, mais facilmente excitáveis, nesse caso, via fótons de mais baixa energia (UV-Visível). Espécies com ligações saturadas absorvem geralmente no UV, enquanto espécies com ligações não saturadas geralmente absorvem no UV-Vis e são chamadas de Cromóforos.

Uma superposição linear de N estados atômicos irá formar N orbitais moleculares. Uma vez construídos os orbitais moleculares, usa-se o princípio do “*building-up*” para determinar a configuração de estado fundamental da molécula, ocupando os orbitais de acordo com o Princípio de Exclusão de Pauli.

Porém, como no caso de moléculas diatômicas, em moléculas poliatômicas, os OM também se espalham por toda a molécula e podem ser descritos por uma superposição de orbitais atômicos  $\psi_i$  na forma,

$$\psi = \sum_i C_i \psi_i, \quad (3.1a)$$

ou

$$\Psi(r_1, r_2, r_3, \dots, r_N) = (\psi_1 + \psi_2 + \psi_3 + \dots + \psi_N) \quad (3.1b)$$

↓

↓

Função de onda molecular      Funções de onda monoelétrica.

Onde  $\psi_i$  são os orbitais atômicos e a soma compreende todos os orbitais (elétrons) de valência de todos os átomos envolvidos na molécula. Os coeficientes  $C_i$  devem ser determinados e o são a partir das equações e do determinante (Eq.3.2, Eq.3.3), igualmente como se faz no caso de moléculas diatômicas.

Primeiramente se resolve o determinante e encontram-se as energias. Então, usa-se as energias nas equações para determinar os coeficientes  $C_i$ :

$$\sum_r C_r (H_{rs} - ES_{rs}) = 0 \rightarrow \text{Equação Secular}; \quad (3.2)$$

$$\text{Det} | H_{rs} - ES_{rs} | = 0 \rightarrow \text{Determinante Secular}; \quad (3.3)$$

onde  $H_{rs}$  são os elementos da matriz Hamiltoniana e  $S_{rs}$  são as integrais de superposição entre estados eletrônicos quânticos, ou seja:

$$S = \int \Psi_A^* \Psi_B dt \rightarrow \text{Integrais de superposição orbital.} \quad (3.4)$$

A diferença principal entre os orbitais moleculares e moléculas diatômicas e poliatômicas é que, no primeiro caso, há apenas a forma linear, enquanto que, no segundo, poderá haver grande variedade de formas moleculares. Por exemplo, uma molécula tri atômica, como a de  $H_2O$ , é triangular, enquanto a molécula de  $CO_2$  é linear. A forma geométrica das moléculas (o tamanho de suas ligações e de seus ângulos típicos) podem ser determinadas calculando-se o espectro de energia total das moléculas para uma variedade de posições nucleares e identificando-se a conformação que corresponde a menor energia.

### 3.2.1. TOM – Aproximações de Huckel

A TOM para o caso particular de moléculas conjugadas, aquelas contendo átomos- $\pi$  ligados ou aquelas onde há uma alternância de ligações simples e duplas ao longo de uma cadeia de átomos de carbono, é descrita a seguir.

A molécula do benzeno seria um exemplo típico de molécula conjugada com ligações simples (C – C) e duplas (C = C) alternadas (Figura 3.3). A classificação de orbitais  $\sigma$  e  $\pi$ , utilizada no caso de moléculas lineares, será também usada aqui para mostrar a simetria local referente a um eixo de uma determinada ligação A – B.

Em 1931, Erick Huckel [32, 33], sugeriu um conjunto de aproximações para se construir os diagramas de níveis de energia dos orbitais moleculares- $\pi$  de moléculas conjugadas, foram denominadas aproximações de Huckel. Nestas aproximações, os orbitais- $\pi$  são tratados separadamente dos orbitais- $\sigma$ , sendo que estes últimos formam uma rede rígida que determina a forma geral da molécula. Este fato deve-se ao alto grau de localização dos

elétrons tipo s. A razão principal para tratar os orbitais  $\sigma$  e  $\pi$  separados é que os elétrons- $\pi$  são bem menos localizados ou ligados do que os elétrons- $\sigma$ , tal que há muito pouca interação entre os dois tipos de orbitais, ou seja, a integral de superposição neste caso é aproximada para zero.

Além disto, todos os átomos de carbono são tratados como idênticos de modo que todas as integrais de Coulomb para os orbitais atômicos que contribuem para os orbitais moleculares são iguais. Isto significa que todos os elementos diagonais da matriz Hamiltoniana  $H_{rs}$  são iguais ( $H_{rs} = \alpha$ , para  $r = s$ ). Todos os elementos não diagonais da matriz  $H_{rs}$  são iguais à zero, exceto para átomos vizinhos onde  $H_{ij} = \beta$ , para  $j = i+1$ . Finalmente, uma aproximação simples, mas que ajuda a encontrar de forma aproximada, os orbitais moleculares, é que as integrais de superposição  $S$  sejam zero, embora isso não seja bem verdade. O determinante, o Hamiltoniano dos elétrons  $\pi$ , é aproximado pela forma mais simples:

$$H_{\pi} = \sum_{i=1}^N H_{ef.}(i). \quad (3.5a)$$

O Hamiltoniano efetivo  $H_{ef}$ , de alguma forma incorpora os efeitos da repulsão eletrônica por uma média. O determinante secular para o caso de dois orbitais é:

$$\begin{vmatrix} H_{rs} - ES_{rs} & H_{ij} - ES_{ij} \\ H_{ji} - ES_{ji} & H_{rs} - ES_{rs} \end{vmatrix} = 0. \quad (3.5b)$$

Se os dois orbitais atômicos forem iguais e se tiverem os mesmos números quânticos, então a simetria simplifica bastante o problema [28].

Os coeficientes e as energias são encontrados quando resolvemos o determinante secular, que no caso para dois átomos a equação fica:

$$\alpha_A = \alpha_B = \alpha, \quad (3.6)$$

e o determinante é:

$$(3.7) \quad \begin{vmatrix} \alpha - E & \beta - ES \\ \beta - ES & \alpha - E \end{vmatrix} = 0.$$

Nas aproximações de Huckel temos: (1) – todas as sobreposições são igualadas a zero; (2) – todas as integrais de ressonância entre não vizinhos são igualadas a zero; (3) – todas as integrais de ressonância, são definidas iguais a  $\beta$ .

E o resultado final da estrutura do determinante secular fica: (a) – todos os elementos da diagonal principal ficam  $\alpha - E$ ; (b) – elementos fora da diagonal, entre os átomos vizinhos são  $\beta$ ; (c) – todos os outros elementos são iguais à zero (0), sendo expresso por:

$$\begin{bmatrix} \alpha - E & \beta \\ \beta & \alpha - E \end{bmatrix} = (\alpha - E)^2 - \beta^2 = 0. \quad (3.8)$$

E suas raízes são:

$$E_{\pm} = \alpha \pm \beta. \quad (3.9)$$

Como  $\beta$  é negativo, o sinal + corresponde à energia do orbital ligante ( $\pi$ ), enquanto o sinal – corresponde à energia do orbital antiligante ( $\pi^*$ ).

### 3.3. Orbitais moleculares e energias do benzeno

O benzeno é o exemplo mais notável de orbitais localizados que conferem a esta molécula, denominada aromática de alta estabilidade. As ligações C–H formam um anel de estrutura planar hexagonal denominado anel benzênico. O benzeno,  $C_6H_6$ , têm a estrutura molecular esquematizada na Figura 3.3. Possui 30 elétrons de valência, destes, 24 estão localizados em 12 orbitais moleculares do tipo  $\sigma$ , entre ligações C–H ou C–C. Os seis elétrons ligados restantes estão localizados em 3 orbitais moleculares tipo  $\pi$ , os quais são não localizados em torno do anel benzênico.

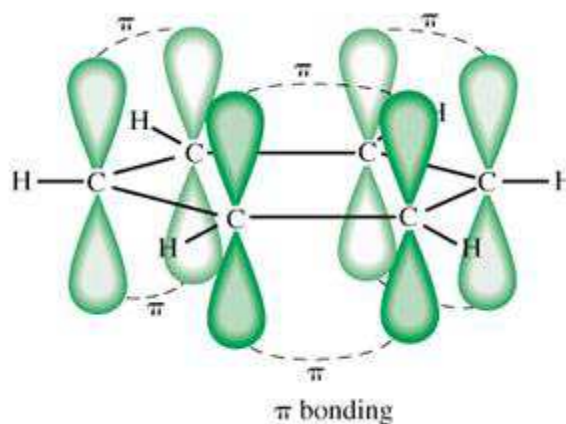


Figura 3.3 – Estrutura das ligações da molécula do Benzeno  $C_6H_6$  [29].

Esses seis elétrons residem no grande espaço que existe acima e abaixo do plano molecular. São os elétrons- $\pi$  os responsáveis pelas transições eletrônicas UV-Visível, conforme veremos abaixo.

Primeiro, as ligações de valência ( $\sigma$ ): os seis átomos de carbono são considerados como híbridos ( $2sp^2$ ), com um único orbital  $2p_z$  não hibridizado. Cada átomo H é ligado a cada átomo C via superposição ( $Csp^2$ ,  $H_{1s}$ ), enquanto os orbitais híbridos restantes se superpõem para formar um hexágono regular, como mostra a Figura 3.4. O ângulo interno do hexágono é de  $120^\circ$ , de modo que a hibridização  $sp^2$  se ajusta idealmente para formação de ligações- $\sigma$ .

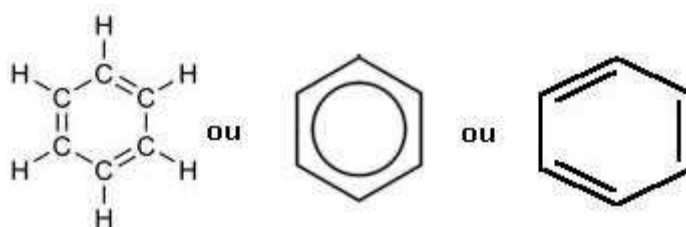


Figura 3.4 – Anel benzênico.

Segundo, os orbitais moleculares- $\pi$ : Os seis orbitais  $C_{2p}$  (elétrons- $\pi$ ) se superpõem formando seis orbitais- $\pi$  que se espalham ao longo de todo o anel benzênico.

### 3.3.1. Aproximações de Huckel para o benzeno

Para que possamos utilizar a aproximação de Huckel [33] com sucesso em moléculas grandes ou complexas (aquelas que se compõem de um número relativamente alto de átomos) se faz necessário o formalismo, em termos de representação matricial, a formulação matricial do método de Huckel. Para um sistema simples de dois átomos, temos que recorrer à duas equações seculares seguintes: Há dois orbitais atômicos, dois autovalores e duas funções de onda, por isso, há dois pares de equações seculares.

Se há N orbitais no conjunto de base (N = número de átomos no conjunto) então, há N autovalores de energias (E) e N auto vetores coluna (C). Assim sendo, temos que resolver N equações da forma:

$$HC_i = S_{e1}C_iE \quad (i = 1, 2, \dots, \text{etc}). \quad (3.10a)$$

Como nas aproximações de Huckel, as integrais de superposição são desprezadas e  $S = 1$  então:

$$HC_i = SC_iE = CE. \quad (3.10b)$$

Tal que:  $C^{-1}HC = E$ .

Assim sendo, para encontrar os autovalores  $E_i$ , temos que encontrar uma transformação para a Hamiltoniana H de modo a fazê-la diagonal. Os elementos diagonais correspondem aos autovalores  $E_i$  e os autos vetores C (matriz coluna) que possibilita a diagonalização de H, são coeficientes dos membros do conjunto de base e assim, fornecem juntos a composição dos orbitais moleculares. O Hamiltoniano dos elétrons  $\pi$  é aproximado da seguinte forma:

$$H_{\pi} = \sum_{i=1}^N H ( i ). \quad (3.11)$$



Para o benzeno, um hidrocarboneto conjugado planar, os únicos orbitais atômicos de simetria  $\pi$  são os  $2p_\pi$  dos carbonos. Como o benzeno possui seis átomos de base (C),  $N = 6$ , sua matriz Hamiltoniana para os elétrons  $\pi$ , é uma matriz  $6 \times 6$  na forma:

$$H = \begin{vmatrix} H_{11} & H_{12} & H_{13} & H_{14} & H_{15} & H_{16} \\ H_{21} & H_{22} & H_{23} & H_{24} & H_{25} & H_{26} \\ H_{31} & H_{32} & H_{33} & H_{34} & H_{35} & H_{36} \\ H_{41} & H_{42} & H_{43} & H_{44} & H_{45} & H_{46} \\ H_{51} & H_{52} & H_{53} & H_{54} & H_{55} & H_{56} \\ H_{61} & H_{62} & H_{63} & H_{64} & H_{65} & H_{66} \end{vmatrix} .$$

A essência da aproximação de Huckel está nas suposições representadas por integrais, ou seja:

$$H_{rr} = \int \psi_r^* H \psi_r d\tau \quad (3.12)$$

As integrais  $H_{rs}$  para ( $r = s$ ) supõem ter o mesmo valor ( $\alpha$ ), assim,  $H_{rr} = \alpha$  para todos os átomos de carbono da molécula, assumidos idênticos como é o caso do benzeno. Logo:

$$H_{11} = H_{22} = H_{33} = H_{44} = H_{55} = H_{66} = \alpha .$$

As integrais de energia  $H_{rs}$  são dadas por:

$$H_{rs} = \int \psi_r^* H \psi_s d\tau \quad (3.13)$$

Então são chamadas de ressonância pois tem o mesmo valor  $\beta$  para quaisquer dois átomos ligados entre si (primeiros vizinhos). Assim:

$$H_{12} = H_{21} = H_{23} = H_{32} = H_{34} = H_{43} = \beta \quad e$$

$$H_{45} = H_{54} = H_{56} = H_{65} = H_{61} = H_{16} = \beta$$

E todas as outras integrais entre átomos não vizinhos são iguais a zero, ou seja:  $H_{13} = H_{31} = H_{14} = H_{41} = H_{15} = H_{51} = H_{24} = H_{42} = H_{25} = H_{52} = H_{26} = H_{62} = H_{35} = H_{53} = H_{36} = H_{63} = H_{46} = H_{64} = 0$

As integrais de superposição  $S_{rs}$  são dadas por:

$$S_{rs} = \int \psi_r^* \psi_s d\tau. \quad (3.14)$$

Eles têm o valor zero para  $r \neq s$  (o que equivale a considerar  $\Delta = 1$ ). Deste modo, a Hamiltoniana para o benzeno é dado por: [33]

$$H = \begin{bmatrix} \alpha & \beta & 0 & 0 & 0 & \beta \\ \beta & \alpha & \beta & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \beta & \alpha & \beta & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \beta & \alpha & \beta & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \beta & \alpha & \beta \\ \beta & 0 & 0 & 0 & \beta & \alpha \end{bmatrix}.$$

Partindo de seis orbitais atômicos, obteremos seis orbitais moleculares. Aplicando o método variacional se obtém os sistemas de equações seculares, ou seja:

$$HC_i = S_{e1}C_iE; \quad (i = 1, 2, \dots, 6) \quad (3.15)$$

que representam um sistema de seis equações com seis incógnitas  $C_i$ , devemos também determinar a energia  $E$ . Dessa maneira, tem-se um sistema de equações lineares homogêneas, e com soluções não nulas, mas com o determinante secular igual à zero [28], ou seja:

$$\det ( \mathbf{H} - \epsilon \mathbf{1} ) = 0 \quad (3.16)$$

ou,

$$\det(H - \varepsilon I) = \begin{vmatrix} H - ES_{11} & H - ES_{12} & H - ES_{13} & H - ES_{14} & H - ES_{15} & H - ES_{16} \\ H - ES_{21} & H - ES_{22} & H - ES_{23} & H - ES_{24} & H - ES_{25} & H - ES_{26} \\ H - ES_{31} & H - ES_{32} & H - ES_{33} & H - ES_{34} & H - ES_{35} & H - ES_{36} \\ H - ES_{41} & H - ES_{42} & H - ES_{43} & H - ES_{44} & H - ES_{45} & H - ES_{46} \\ H - ES_{51} & H - ES_{52} & H - ES_{53} & H - ES_{54} & H - ES_{55} & H - ES_{56} \\ H - ES_{61} & H - ES_{62} & H - ES_{63} & H - ES_{64} & H - ES_{65} & H - ES_{66} \end{vmatrix} = 0.$$

Considerando as simplificações pela aproximação de Huckel o determinante é reduzido para a seguinte expressão:

$$\det(H - \varepsilon I) = \begin{vmatrix} \alpha - \varepsilon_K & \beta & 0 & 0 & 0 & \beta \\ \beta & \alpha - \varepsilon_K & \beta & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \beta & \alpha - \varepsilon_K & \beta & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \beta & \alpha - \varepsilon_K & \beta & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \beta & \alpha - \varepsilon_K & \beta \\ \beta & 0 & 0 & 0 & \beta & \alpha - \varepsilon_K \end{vmatrix}.$$

A diagonalização desta matriz de energia resulta em:

$$E_{il} = \begin{bmatrix} \alpha + 2\beta & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \alpha + \beta & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha + \beta & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \alpha - \beta & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \alpha - \beta & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \alpha - 2\beta \end{bmatrix},$$

onde os elementos diagonais são os autovalores de energia correspondentes aos orbitais moleculares do benzeno. Dessa forma,  $E(a_{2u}) = \alpha + 2\beta = E_1$ ,  $E(e_{1g}) = \alpha + \beta = E_2 \rightarrow$  (duas vezes degenerado); e,  $E(e_{2g}) = \alpha - \beta = E_3$  (duas vezes degenerado) e  $E(b_{2u}) = \alpha - 2\beta = E_4$ . Como  $\beta$  é negativo, os orbitais do benzeno pode ser ordenados em energia como ilustra a Figura 3.5.

Os dois orbitais inferiores ( $a_{2u} = \sigma$ ) e ( $e_{1g} = \pi_x, \pi_y$ ) são ligantes, enquanto os orbitais superiores ( $e_{2g} = \pi_x^*, \pi_y^*$ ) e ( $b_{2u} = \sigma^*$ ) são antiligantes. Os seis elétrons- $\pi$  do carbono ocupam os estados ligantes mais baixos. O primeiro orbital é não degenerado, portanto, só comporta dois elétrons pareados. O segundo orbital ligante é duplamente degenerado, comportando quatro elétrons.

Os orbitais se encontram rotulados com notação de grupo de simetria a que eles pertencem. O orbital  $e_{1g}$  de energia mais baixa são ligações entre todos os seis átomos vizinhos (orbitais ligantes- $\pi$ ). O orbital  $e_{2g}$  de mais alta energia é antiligante entre pares de átomos vizinhos (semelhantes aos orbitais- $\pi^*$  antiligantes). Os orbitais intermediários são uma mistura de orbitais ligantes ( $\pi$ ), antiligantes ( $\pi^*$ ) (Figura 3.6).

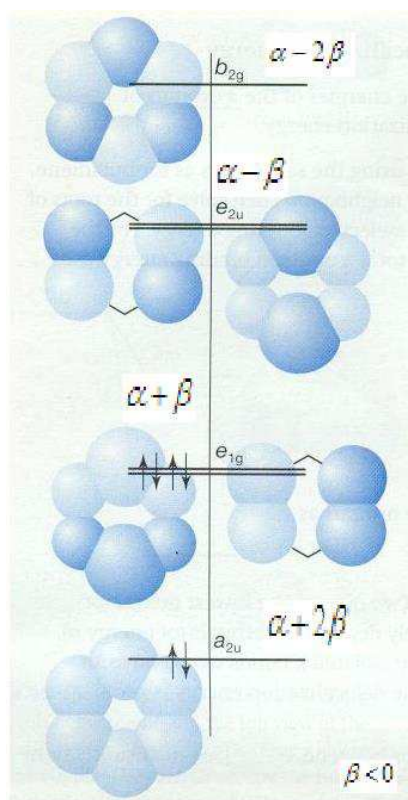


Figura 3.5 – Diagrama de orbitais moleculares e respectivas energias para o benzeno [28].

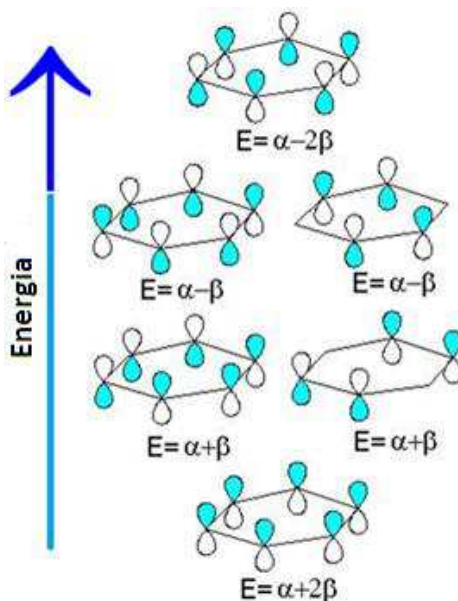


Figura 3.6 – Diagrama de orbitais moleculares do benzeno e respectivas energias dos orbitais ligantes,  $E_{(a_{2u})}$  e  $2E_{(e_{1g})}$  e dos orbitais antiligantes,  $2E_{(e_{2g})}$  e  $E_{(b_{2u})}$ .

Para todas as ligações simples, um elétron de cada átomo compartilha de uma ligação  $\sigma$ . Em todas as ligações duplas, um elétron de cada átomo compartilha da ligação  $\sigma$ , enquanto um elétron de cada átomo compartilha da ligação  $\pi$ . A rede de ligações  $\sigma$  é quem determina a forma da molécula. Portanto, quaisquer elétrons ocupando orbitais  $\pi$  não influenciam na forma geométrica de uma molécula.

Com os orbitais e suas respectivas energias, podemos agora moldar a distribuição eletrônica do benzeno pelos orbitais moleculares dessa molécula. Como há seis elétrons  $\pi$  para serem acomodados (um para cada átomo de carbono), então apenas o orbital fundamental  $\pi$ ,  $a_{2u}$ , (com dois elétrons pareados) e o orbital intermediário,  $e_{1g}$  (com quatro elétrons pareados, por ser duplamente degenerado) serão totalmente ocupados, resultando na configuração de estado fundamental  $a_{2u}^2, e_{1g}^4$  para o benzeno.

Tal configuração resulta no termo fundamental  ${}^1A_{1g}$ , onde todos os orbitais ocupados têm caráter de orbitais ligantes. Os orbitais antiligantes  $\pi^*$  ( $e_{2g}, b_{2u}$ ) ficam totalmente desocupados, conforme mostra a Figura 3.6.

As possíveis linhas espectrais (transições eletrônicas) esperadas são:

$$\Delta E_{43} = h\nu = E_4 - E_3 = (\alpha - 2\beta) - (\alpha - \beta) = -\beta = |\beta|;$$

$$\Delta E_{32} = h\nu = E_3 - E_2 = (\alpha - \beta) - (\alpha + \beta) = -2\beta = |2\beta| \text{ e}$$

$$\Delta E_{42} = h\nu = E_4 - E_2 = (\alpha - 2\beta) - (\alpha + \beta) = -3\beta = |3\beta|.$$

O nível de mais baixa energia corresponde ao orbital molecular de ligações ligantes entre todos os átomos vizinhos mais próximos. Os níveis intermediários correspondem a uma mistura de ligações ligantes e antiligantes entre átomos próximos. Já o nível mais alto corresponde ao orbital antiligante entre cada par de vizinhos.

### 3.4. Espectro UV-Visível do benzeno

O correspondente espectro UV-Visível do benzeno encontra-se ilustrado na Figura 3.7. O benzeno tem três bandas de absorção centradas em 184 nm, 204 nm e em 256 nm. Todas estas bandas têm origem em transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  e são denominadas bandas-B benzenóides, comuns a todos os compostos aromáticos. A banda mais intensa, 184 nm e a 204 nm resultam de transições permitidas por simetria (symmetry-allowed transitions) enquanto a outra, em 256 nm é de baixa absorvidade, que resulta na transição proibida por simetria (symmetry-forbidden transitions) e não está nesse espectro.

A molécula de benzeno pertence ao grupo de simetria  $D_{6h}$ . O estado fundamental de moléculas com tal simetria é o  ${}^1A_{1g}$ .

O operador momento de dipolo elétrico abre os níveis  $A_{2u}(z) + A_{1u}(x,y)$  no grupo  $D_{6h}$ , onde o eixo  $C_6$  é paralelo ao eixo z e perpendicular ao plano do anel benzênico. Portanto, as transições permitidas por simetria são  ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1E_{1u}$  (185 nm) e  ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1B_{1u}$  (204 nm). A banda proibida por simetria (256 nm) corresponde a transição  ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1B_{2u}$ . A Figura 3.6 mostra o esquema de orbitais moleculares do benzeno com as correspondes energias em função dos parâmetros  $\alpha$  e  $\beta$ , calculados pela aproximação de Huckel.  $\beta$  é negativo de modo que o estado fundamental  ${}^1A_{1g}$  é o de energia mais baixa,  $\alpha + 2\beta$ .

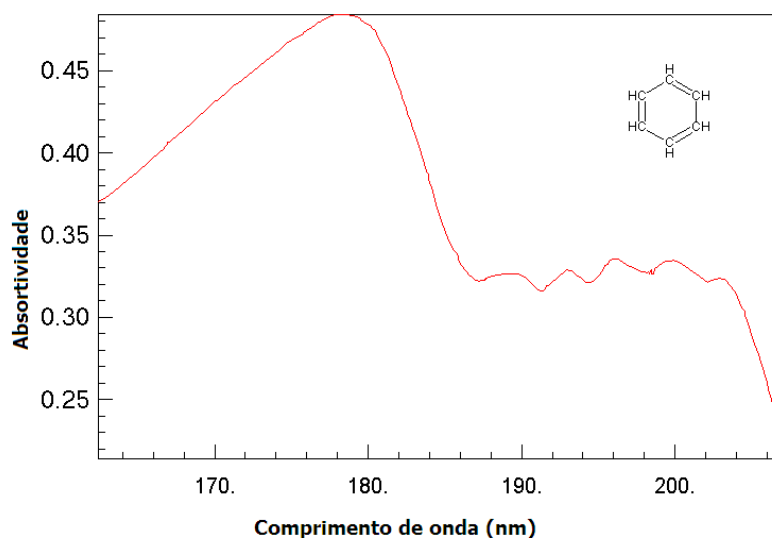


Figura 3.7 – Espectros eletrônicos UV do benzeno, mostrando uma banda benzenóide B de absorção, resultantes de transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  que ocorre em torno de  $\lambda_{\text{máx.}} = 184\text{nm}$  [29].

Os seis elétrons de valência do benzeno ocupam e completam justamente os orbitais ligantes, resultando em estados ligados, enquanto os orbitais antiligantes estão completamente vazios. Isto confere à molécula de benzeno uma pronunciada inatividade química. Outra característica marcante da molécula de benzeno é que os níveis de energia são simétricos: a todo nível ligante corresponde um nível antiligante.

Os elétrons numa cadeia benzênica fechada são, portanto, fortemente localizados, resultando em transições de altas energias (região UV). Isto que é observado amplamente em compostos orgânicos aromáticos e o que mostra o espectro da Figura 3.7. Elétrons localizados resultam em energias mais baixas, conseqüentemente maior estabilidade da molécula. Uma terceira característica importante das bandas-B do benzeno e de seus homólogos é a fina estrutura presente nos espectros. Trata-se do conjunto de linhas finas superpostas à banda-B, e tem origem na absorção entre subníveis vibracionais superpostos aos níveis eletrônicos, são as transições vibrônicas.

O espectro UV-Visível do dieno exibe uma clara estrutura fina com três linhas bem definidas compondo esse espectro (Figura 3.8).

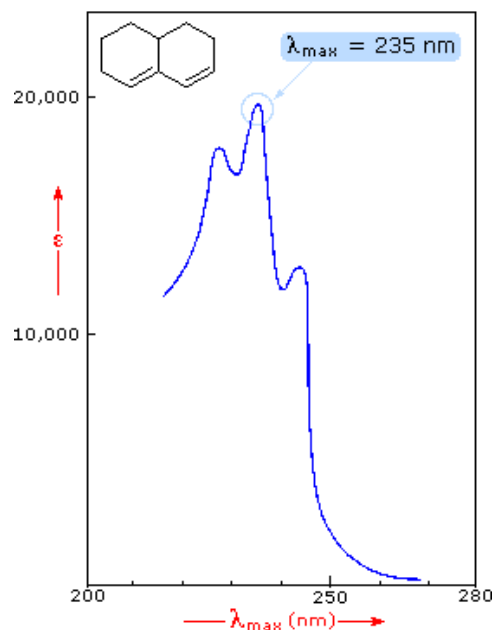


Figura 3.8 – Espectro de absorção UV do dieno bicíclico mostrando a estrutura fina como resultados das transições vibracionais [29].

### 3.5. Espectros UV-Visível e a cor das substâncias

É interessante notar como as cores da natureza (das substâncias em geral) estão relacionadas com o espectro Visível, quer seja a convencional, ou a fotoacústica. A Figura 3.9, ilustra tal correlação, conjugações adicionadas como no Naftaleno (rosa), Antraceno (verde) e no Tetraceno (azul) no espectro dessa figura, mostra as bandas de absorção se deslocando para o vermelho com a adição de conjugações. Veja que para o Naftaleno e Antraceno, os espectros se concentram totalmente na região UV. Por este motivo, ambos são incolores. Já no caso do Tetraceno o espectro (azul) invade a região visível (azul). Como a cor complementar do azul é o laranja, o Tetraceno possui esta cor. Ver disco de Atkins na Figura 3.10.



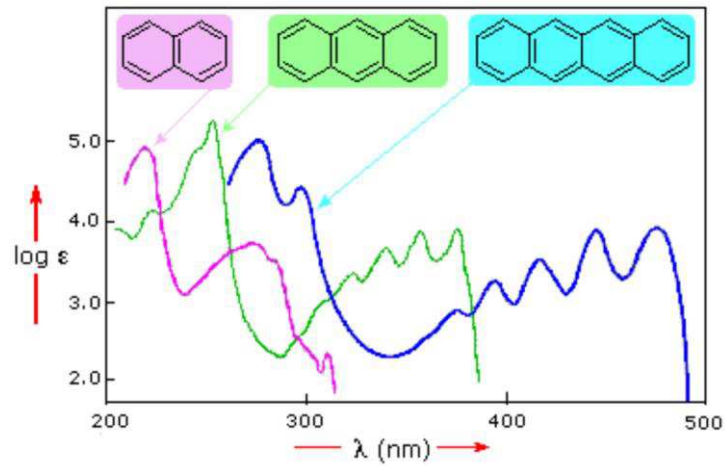


Figura 3.9 – Espectros UV-Vis do naftaleno (rosa), antraceno (verde) e tetraceno (azul) [29].

Estes deslocamentos das bandas de absorção para o vermelho (*red shifts*) estão relacionados com o fato de que, ao acrescentar mais conjugações de benzeno, mais se deslocam os elétrons que ocupam os orbitais moleculares que se estendem por toda a molécula. Maior deslocalização de elétrons implica em menor energia de ligação, conseqüentemente, maior comprimento de onda da transição. Este comportamento foi sistematicamente observado nesse nosso trabalho. Como exemplo, vamos citar o caso do ácido ascórbico (Vitamina C) e das antocianinas. Enquanto no primeiro, que contém apenas um anel benzênico, a banda de absorção foi encontrada em  $\lambda_{\text{max}} = 265 \text{ nm}$  (região UV), nas antocianinas, com três anéis benzênicos conjugados foram observadas bandas de absorção com  $\lambda_{\text{max}}$  entre 495 e 545 nm (região visível).

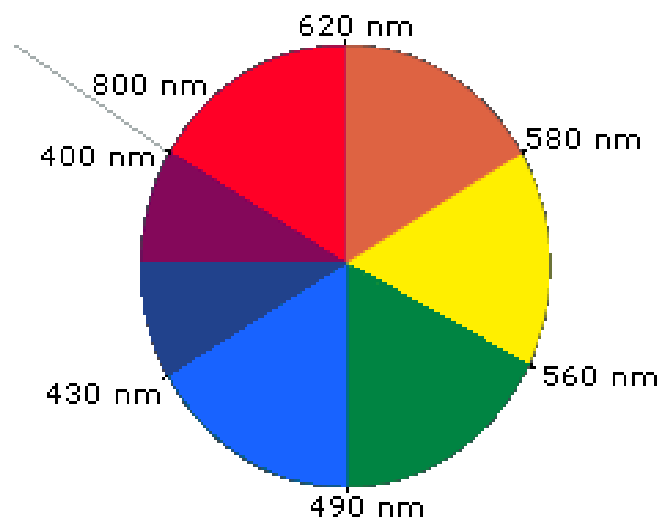


Figura 3.10 – Disco de cores de Atkins ilustrando as cores do espectro visível e as correspondentes cores complementares. Para cada cor a complementar é a cor oposta neste diagrama.

### 3.6. Bandas de energias moleculares

As transições ou absorções no UV-Visível ocorrem em bandas de energia e são classificadas de acordo com os orbitais moleculares envolvidos, como segue.

a) BANDAS-R ( $n \rightarrow \pi^*$ ): são chamadas bandas-R as transições  $n \rightarrow \pi^*$  (entre orbitais não-ligados  $\rightarrow$  antiligantes) que ocorrem em grupos simples e únicos como o grupo Carbonila, (C=O). São chamadas transições proibidas, pois são caracterizadas por apresentarem muito baixa absorvidade molar,  $\epsilon$ . Elas geralmente submergem dentro de bandas mais intensas.

b) BANDAS-k ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ): são bandas atribuídas a transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  (ou seja, quando o elétron faz uma transição de um estado ligante- $\pi$  para um estado antiligante- $\pi^*$ ). Isto ocorre no caso de moléculas que têm estrutura conjugada  $\pi$ - $\pi$  como, por exemplo, o butadieno, e em sistemas dieno ou polieno. Em compostos aromáticos tais transições ocorrem e são caracterizadas por alta absorvidade molar,  $\epsilon > 10.000$ .

c) BANDA-B (OU BANDAS AROMÁTICAS OU BENZÊNICAS): são bandas espectrais típicas de moléculas aromáticas ou heteroaromáticas (que contêm um ou mais anéis benzênicos). Por exemplo, o benzeno,  $C_6H_6$ , cuja estrutura molecular está esquematizada na Figura 3.11, exhibe bandas benzênicas. Este mesmo tipo de banda vai aparecer em todos os casos de biomoléculas investigadas em nosso trabalho, tais como os ácidos fenólicos (geralmente contendo um anel benzênico) e todos os flavonóides (contendo geralmente três anéis benzênicos conjugados).

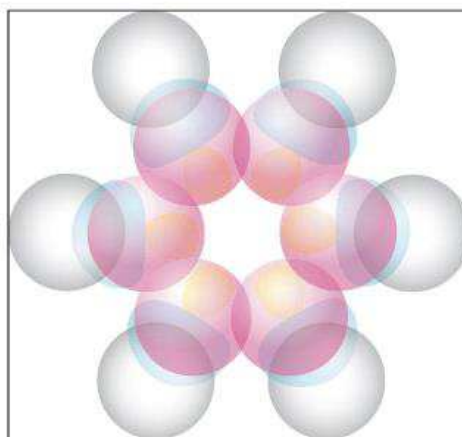


Figura 3.11 – Estrutura moderna da molécula do benzeno [29].

## 4. Detalhes Experimentais

Neste capítulo, serão apresentados detalhes experimentais do Espectrômetro Fotoacústico da Unidade Acadêmica de Física da Universidade Federal de Campina Grande, Campus I, utilizado na obtenção dos nossos espectros obtidos no decorrer de nosso trabalho.

### 4.1. Os princípios básicos da espectroscopia

A Espectroscopia é o ramo mais antigo e importante da física experimental. Nasceu e se desenvolveu com o advento da física moderna nos anos de 1900. Ela se baseia na observação e estudo da radiação, seja de mais baixas energias como as Ressonâncias Magnéticas: Nuclear (RNM) e Eletrônica (RPE), observadas nas regiões de MHz e GHz ou em alta energia como a Espectroscopia de raios-X, que pode ser emitida, refletida, transmitida, absorvida ou até mesmo espalhada por um sólido, líquido ou gás. Seus princípios básicos se aplicam a qualquer tipo de material.

Nos últimos anos, tem-se constatado que, de uma forma ou de outra, a espectroscopia fotoacústica tem estado no centro dos dispositivos experimentais e teóricos das investigações de como a matéria e energia interagem. O campo da espectroscopia, interação da radiação de fótons com a matéria, estende-se desde o extremo de energias muito baixas, região do infravermelho longínquo, de 50 até 1000  $\mu\text{m}$ , até as altas energias nucleares, na faixa dos raios X. Certamente é o ramo experimental que mais tem colaborado para a elucidação dos segredos do mundo microscópico da matéria [29]. Quando fótons de luz interagem (incide) com a matéria, parte deles pode ser absorvida, refletida e transmitida ou espalhada no interior do próprio material.

Para energias ou fótons abaixo de 1keV, as duas técnicas espectroscópicas mais comuns são as de Espectroscopia Ótica por transmissão ou absorção, na qual é medida a quantidade de luz ou energia transmitida através do material, a partir daí, obtém-se o espectro de absorção ótica do material sob investigação em função da frequência, ou do comprimento de onda da radiação incidente [28, 29]. Por outro lado, na espectroscopia por reflexão, é medida a luz refletida pela superfície do material [28]. Se no processo de interação da radiação com a matéria, ocorrer reflexão, então, o feixe de fótons refletidos geralmente se decompõe em diversas divisões muito finas em um range largo de comprimentos de onda, além daquela que o olho humano pode perceber. Em outras palavras, o feixe refletido aparece como um espectro que pode ser observado por um espectrômetro de reflectância

(Espectroscopia de Reflectância). As energias envolvidas neste processo vão geralmente do ultravioleta, passando pelo visível até o infravermelho.

No entanto, existe na natureza, uma enorme variedade de materiais orgânicos e inorgânicos e sistemas biológicos, cujas propriedades físicas fundamentais, amorfos, opacos, alta intensidade de centros espalhadores de luz, estado gel etc. Para esta classe de materiais existem técnicas apropriadas tais como refletância difusa, ou refletância atenuada, que vem sendo utilizadas, embora de modo bastante restrito, devido às series de limitações por eles impostas, como veremos a seguir.

## **4.2. Espectroscopia Ótica Convencional**

A Energia utilizada, na Espectroscopia Ótica convencional, para a interação da radiação com a matéria vem na forma de fótons, com comprimentos de onda indo do raios-X menos de um angstrom, até o infravermelho distante, da ordem de micros. É uma técnica não destrutiva e muito utilizada ainda hoje, em todo esse amplo intervalo de energia, para investigar as mais diversas formas de interação da radiação com a matéria, de onde se obtém conhecimentos acerca das propriedades físicas, químicas e biológicas dos materiais [34, 35].

A Espectroscopia Ótica se caracteriza pelo fato de que seus dados experimentais são obtidos a partir da detecção de fótons, quer sejam transmitidos, refletidos ou espalhados pelo material. Deve ser, portanto, enfatizado que a grande deficiência desta técnica está no fato de ela se encontrar impedida de detectar uma parte importante do feixe incidente, exatamente aqueles fótons que são absorvidos ou aniquilados na interação com a matéria. Os fótons absorvidos nos processos de interação são de grande interesse para a caracterização de uma vasta gama de materiais, principalmente materiais químicos e biológicos, de características opacas, em geral.

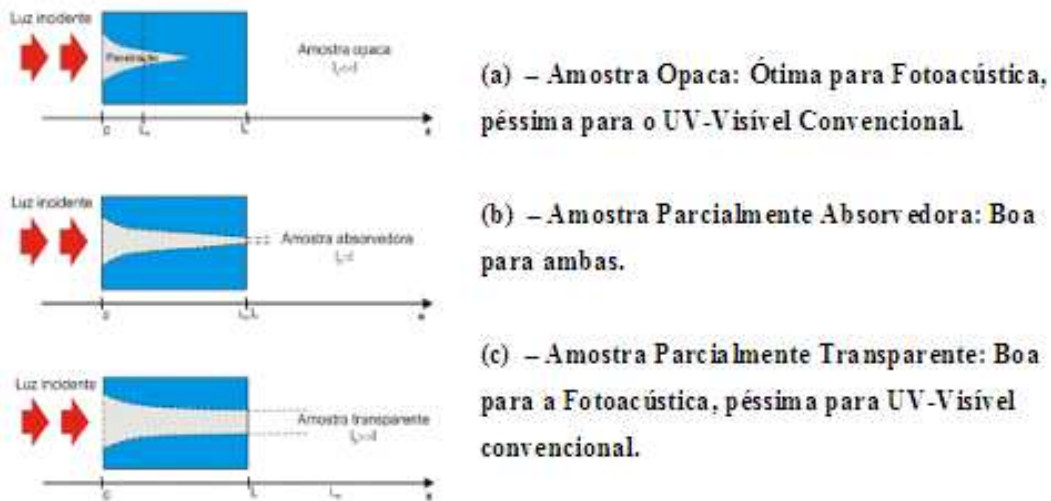


Figura 4.1 – Comportamento da luz em diversos materiais: (a) opacos, (b) absorvedor e (c) transparente [29].

A Espectroscopia Ótica convencional se mostra inadequada em estudos de materiais transparentes ou quase transparentes porque neste caso envolve a detecção de uma variação muito pequena na intensidade de um sinal transmitido muito forte e não atenuado. Por outro lado, materiais que são opacos, dimensões que excedem o comprimento de penetração de fótons, essas propriedades de absorção de radiação são impossíveis de serem observadas, devido à inexistência de radiação transmitida. Geralmente, os materiais orgânicos como os investigados nesse trabalho, são opacos, cujas propriedades são difíceis de observar por essas técnicas convencionais de transmissão e reflexão: são materiais que espalham a luz, tais como substâncias amorfas, substâncias em forma de pó, gel, tecidos e materiais biológicos em geral. Nesses casos, umas composições de sinais de reflexão especular, reflexão difusa e fótons transmitidos tornam muito difíceis, senão impossível, a análise dos dados experimentais.

Como resultados dessas dificuldades acima apontadas, muitos anos se passaram com os cientistas buscando descobrir técnicas que se adequassem ao estudo de materiais fortemente espalhadores de luz e opacos até que foram descobertas. Chegou-se a algumas técnicas, tais como Espectroscopia Raman, Reflectância Difusa, Espectroscopia de Reflexão Interna e Espectroscopia de Reflexão Total Atenuada. Cada uma delas mostrou algum grau de utilidade prática, porém, todas sofrem sérias limitações, cada uma delas é aplicada a um número muito limitado de matérias, só funcionam em intervalo muito restritos de energia. Como consequência, em todas elas, a interpretação dos dados se torna muito difícil.

A Espectroscopia Ótica convencional trabalha com os processos de excitação e desexcitação radioativas, envolvendo tanto absorção como emissão de fótons. Essas duas técnicas são geralmente utilizadas: A Espectroscopia Ótica por Transmissão – onde se investiga os fótons que são transmitidos por certo materiais, ou seja, a parte de um feixe de fótons incidentes que não interage com o material investigado, e a Espectroscopia de Reflexão, onde se investiga os fótons que são refletidos e ou espalhados por certo material, ou seja, a parte de um feixe de fótons que interage com o material investigado.

#### 4.2.1. Decaimento Radioativo – Fótons

O processo de decaimento radioativo ocorre acompanhado da criação e emissão espontânea de fótons durante o processo de relaxação da espécie excitada para o estado fundamental. A espécie excitada busca dissipar sua energia excedente, ganha no processo de excitação, e volta ao estado inicial de equilíbrio, fazendo-o de maneiras distintas. Exemplos típicos desta modalidade de decaimento radioativo são os processos de fluorescência e fosforescência, onde o decaimento da espécie de um estado excitado para o estado fundamental é acompanhado da criação de fótons de energia  $h\nu$ . No processo fluorescente a radiação cessa assim que a excitação é removida (curto tempo de relaxação), enquanto que no processo fosforescente, a radiação continua por algum período de tempo depois de cessada a excitação (longo tempo de relaxação). É preciso, antes de tudo, notar que a excitação é um processo que leva a espécie para uma situação de não equilíbrio.

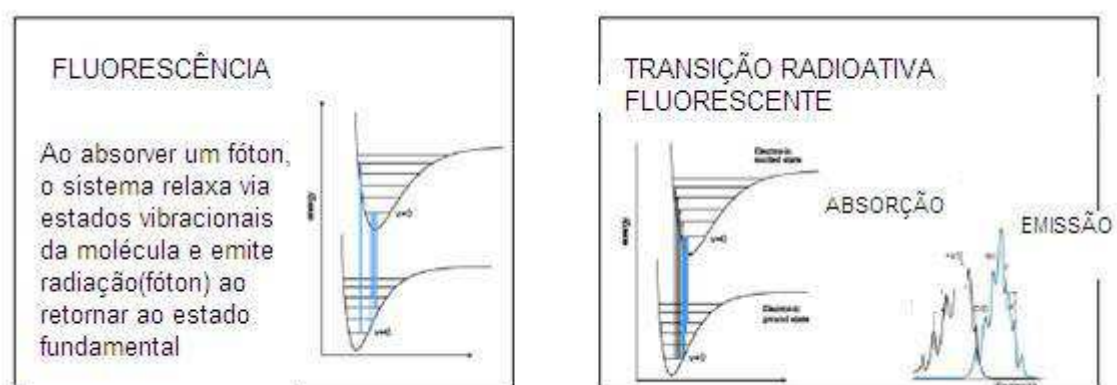


Figura 4.2 – Radiação de fótons [29].

A partir dos anos 70, uma nova técnica experimental da física foi idealizada para investigar exatamente toda a extensiva gama de materiais onde a Espectroscopia Ótica convencional (técnicas de transmissão e reflexão) se mostrou inadequada.

#### 4.2.2. Absorção Ótica

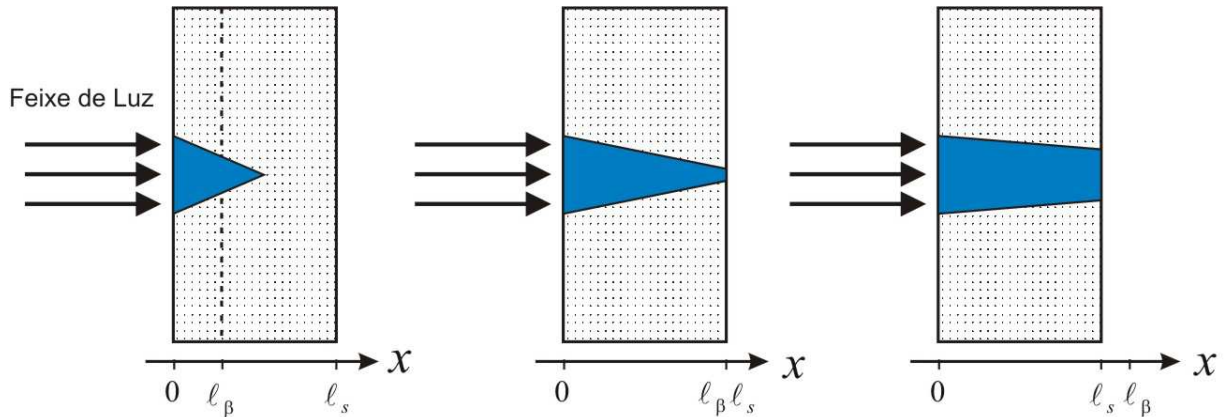


Figura 4.3 – Absorção Ótica para três amostras de características diferentes. Determinada pela distância  $l_\beta$  em que a Radiação Luminosa é Reduzida a  $1/e$  [36].

Enquanto que, a absorção ótica é caracterizada com a intensidade reduzida do feixe de luz na amostra. O parâmetro que mede essa absorção é chamado comprimento de absorção ótica  $l_\beta$  e especifica o caráter ótico do material. A Figura 4.3 mostra o comprimento ótico para três amostras de característica diferentes. Nestas amostras comparamos a espessura  $l_s$  com o comprimento de absorção ótica  $l_\beta$ .

Se  $l_\beta \ll l_s$  teremos uma amostra parcialmente opaca, se  $l_\beta \approx l_s$  a amostra é totalmente opaca e se  $l_\beta > l_s$  a amostra é opticamente transparente.

Depois que ocorre a absorção, existe um processo de transferência térmica gerada no ponto onde a luz penetrou na amostra. Essa energia térmica é irradiada para o restante da amostra caracterizando a difusão térmica.

### 4.3. Espectroscopia UV-Visível

A energia requerida para provocar alterações na estrutura eletrônica de átomos e moléculas situa-se na região do espectro eletromagnético UV-Vis. Como a absorção óptica de energia é quantizada, resulta no processo de excitação de elétrons de orbitais do estado fundamental para o de estados excitados de mais altas energias, ao decaírem para o estado fundamental ou estados intermediários emitem fótons de energias,  $h\nu$ , igual à diferença de energia de estados quânticos final e inicial. Esse processo ocorre principalmente na região UV-Visível, dependendo da estrutura eletrônica dos átomos ou moléculas sob investigação.

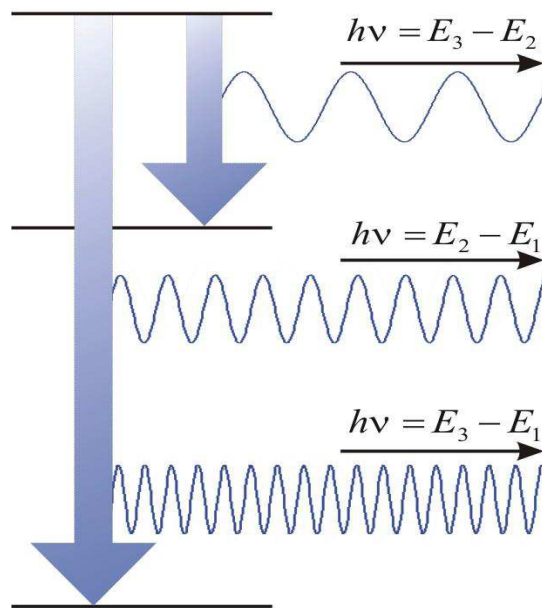


Figura 4.4 – Níveis e transições quânticas [37].

Mas, na espectroscopia UV-Visível, obtemos um espectro de intensidade da absorção, absorvância ou transmitância, em função do comprimento de onda  $\lambda$ , ou da frequência  $\nu$ , ou do número de ondas  $K$  da radiação incidente. Os resultados podem ser coletados na forma numérica ou gráfica. A parte ultravioleta do espectro UV-Visível estende-se de aproximadamente 200 nm a 380 nm e a parte visível vai de 380 nm a 800 nm, que é a fronteira vermelho-infravermelho do espectro eletromagnético.

A energia, tanto quanto a luz é quantizada, em “quanta” iguais a  $h\nu$ . Um espectro no UV-visível pode ser composto de uma ou diversas linhas e cada linha corresponde a uma única transição entre dois estados quânticos, na espectroscopia atômica ou molecular.



A espectroscopia é atômica, quando aplicada a átomos isolados e a espectroscopia é molecular quando aplicadas a moléculas ou complexos moleculares.

Em Mecânica Quântica, a relação entre a energia da radiação numa transição eletrônica e o comprimento de onda  $\lambda$ , da frequência  $\nu$  ou do vetor de onda  $K$ , é dada pela relação:

$$\Delta E = \frac{hc}{\lambda} = hcK \quad (4.1)$$

Onde  $h$  é a constante de Planck,  $C$  é a velocidade da luz,  $\lambda$  é o comprimento de onda e  $\Delta E$  é a energia absorvida na transição eletrônica de um estado de mais baixa energia para outro de mais alta energia ou a energia emitida pela transição de um estado excitado de mais alta energia para um estado de energia mais baixa. Em consequência da quantização de energia, um espectro de emissão ou de absorção em UV-visível, é composto de linhas ou bandas discretas de Energias.

#### 4.4. Espectroscopia Fotoacústica

Apesar de muito recente, a técnica PAS tem suas raízes nos anos de 1880, quando Alexander Graham Bell [38] e outros cientistas estudavam o efeito óptico-acústico de um gás numa célula fechada iluminado por uma luz modulada (periódica). Ele detectou pela primeira vez estas flutuações de pressão, sob a forma de som audível através de um tubo de escuta. Pelo fato do sinal encontrar-se na faixa acústica, esse fenômeno passou a ser denominado de efeito fotoacústico. A energia absorvida pelo gás, neste caso, é parcial ou totalmente transformada em energia cinética das moléculas desse gás, resultando num gradiente de temperatura ou, equivalentemente, numa flutuação de pressão no interior da célula.

Observou também que materiais absorvedores de luz produzem intensos sinais fotoacústicos e vice-versa. Esta dependência do sinal fotoacústico como o nível de absorbância dos materiais levou Graham Bell a propor o Efeito Fotoacústico como base de uma nova modalidade de espectroscopia capaz de medir o espectro de absorção óptica de materiais em geral, denominada de PAS, seria um espectrômetro de prisma, um prisma

dispersaria a luz policromática (branca), permitindo que luz monocromática de um determinado comprimento de onda refletisse na amostra, porém com a possibilidade de comprimento de onda variáveis, com a rotação do prisma. Um tubo de escuta permitiria a detecção em áudio do sinal fotoacústico para diversas matérias e em diversos comprimentos de onda.

Em 1975, Allan Rosencwaig e A. Gersho [34] desenvolveram uma brilhante teoria em que ficou demonstrado que a técnica de PAS podia se transformar numa das mais poderosas ferramentas de investigação científica da matéria em qualquer estado: líquido, semissólido ou sólido, conforme veremos detalhadamente a seguir. Nos anos de 1980, uma nova técnica espectroscópica para a investigação de sólidos foi desenvolvida por Allan Rosencwaig e A. Gersho [34]. Com desenvolvimento fantástico alcançado no campo da eletrônica em áreas como geração amplificação, integração e processamento de sinais, sofisticado sistemas de detecção óptica e acústica, produção de instrumentação óptica de alta sensibilidade e pressão como os monocromadores de varredura é que a espectroscopia veio a estabelecer-se como uma técnica de vasta aplicabilidade, versatilidade e, por isto de intenso uso em diversos campos da física e mais recentemente, em ciências dos materiais e tem-se espalhado rapidamente por todo o mundo, denominada ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA – (PAS) – PHOTOACOUSTIC SPECTROSCOPY.

#### **4.4.1. Decaimento não-Radioativo - Calor**

Este tipo de decaimento, chamado também de decaimento térmico, é o mais comum, que ocorre em quase todas as situações envolvendo excitações atômicas e moleculares. Neste processo, ao invés da energia excedente da espécie excitada ser toda utilizada na criação de fótons, parte dela é transferida para átomos ou moléculas vizinhas mais próximas. Inicialmente a transferência de energia se dá dentro dos níveis ou modos vibracionais das espécies vizinhas, conforme a Figura 4.5.

Já, o Efeito Fotoacústico tem origem no decaimento não radioativo no qual a energia é transferida da espécie excitada para moléculas vizinhas mais próximas, resultando em dissipação de calor com origem em ondas térmicas. O decaimento ou relaxação radioativa e a não radioativa ocorrem da seguinte maneira: O modelo mais simples para se entender o mecanismo de relação não radioativa é o seguinte, considere inicialmente o estado eletrônico

excitado da espécie como sendo  $|i\rangle$ , de energia  $E_i$ , acompanhado de um conjunto de estados vibracionais  $|v\rangle$ , espaçados em energia  $\varepsilon$  e que agem como reservatório térmico.



Figura 4.5 – Decaimento não-radioativo: após absorver um fóton, uma molécula vai para um estado eletrônico excitado. Muito provavelmente para um dos estados vibracionais da molécula. Outros processos ocorrem (decaimentos radioativos), trazendo a molécula de volta para o estado eletrônico fundamental [29].

Esses conjuntos de níveis devem ser da vizinhança mais próxima. A espécie excitada vê esses pequenos níveis separados por uma perturbação e a utiliza para descarregar a energia excedente de forma que esses estados vibracionais são quem passam a ser excitados, gerando modos de vibração, os fônons, com conseqüente geração de calor. Em outras palavras, a energia de excitação é transferida para o reservatório (níveis vibracionais), gerando calor em vez de fótons. No Efeito Fotoacústico, excita-se a espécie com luz modulada a uma determinada frequência  $f_m$  escolhida convenientemente. Desse modo, o calor gerado por desexcitação não radioativa aparece na forma de ondas térmicas de frequência igual a  $f_m$ . Tais ondas térmicas, mediante o processo de difusão térmica, migram para a superfície da amostra, gerando um gradiente de temperatura. Se colocarmos uma pequena coluna de gás em interface com a superfície da amostra, será gerado neste um gradiente de pressão, ou onda acústica de frequência modulada  $f_m$ , esta onda é captada por um microfone de alta sensibilidade e processado por um amplificador síncrono “lock-in”. O resultado é um sinal chamado fotoacústico, gerado na frequência de excitação entre os estados eletrônicos da molécula.

A origem do sinal fotoacústico está na transferência periódica do calor da amostra em interface com o gás. A equação que descreve essa variação periódica da pressão está relacionada com a variação periódica da temperatura na amostra [35]:

$$T_{(0)} = \frac{\beta I_0}{2k_s(\beta^2 - \sigma_s^2)} \left[ \frac{(r-1)(b-1)e^{\sigma_s \ell} - (r+1)(b-1)e^{-\sigma_s \ell} + 2(b-r)e^{-\beta \ell}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s \ell} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s \ell}} \right]. \quad (4.2)$$

sendo  $b$ ,  $g$ ,  $r$  e  $\sigma_s$  dado respectivamente por:

$$b = \frac{k_b a_b}{k_s a_s}; \quad g = \frac{k_g a_g}{k_s a_s}; \quad r = (1-j) \frac{\beta}{2a_s}; \quad \sigma_s = \frac{(1+j)}{\mu_s}$$

Onde  $\beta$  é o coeficiente de absorção óptica;  $I_0$  é a intensidade da luz incidente;  $\sigma_s$  é o coeficiente complexo de difusão térmica;  $\ell$  é o comprimento da amostra;  $a_s$  é o coeficiente de difusão térmica;  $g$  é o gás;  $b$  é o suporte;  $k$  é a condutividade térmica;  $\mu_s = 1/a_s$  é o comprimento de difusão térmica.

Considerando a camada de gás no intervalo  $x = 0$  e  $x = -2\pi\mu_g$ , obtém-se a variação da pressão:

$$\delta P(t) = Q e^{i(\omega t - \frac{\pi}{4})}. \quad (4.3)$$

Onde:

$$Q = \frac{\gamma P_0 T(0) \mu_g}{\sqrt{2} \ell_g T_0}, \quad (4.4)$$

Sendo  $\gamma = C_p/C_v$  a razão entre o Calor específico à pressão constante e o Calor específico a volume constante,  $P_0$  a pressão ambiente e  $T_0$  a temperatura média da amostra.

O sinal fotoacústico é a componente não temporal de variação da pressão, com uma intensidade  $S_F$  com fase  $\Phi_F$  e sua representação no plano complexo é:

$$\delta P(t) = S_F e^{j\omega t}, \quad (4.5)$$

Onde:

$$S_F = \left( \frac{\gamma P_0}{\ell_g \sigma_g T_0} \right) T(0) e^{j\phi_F}. \quad (4.6)$$

Logo  $S_F$  é o sinal fotoacústico detectado por um microfone de alta sensibilidade que é parte essencial de um espectrômetro fotoacústico [34, 35].

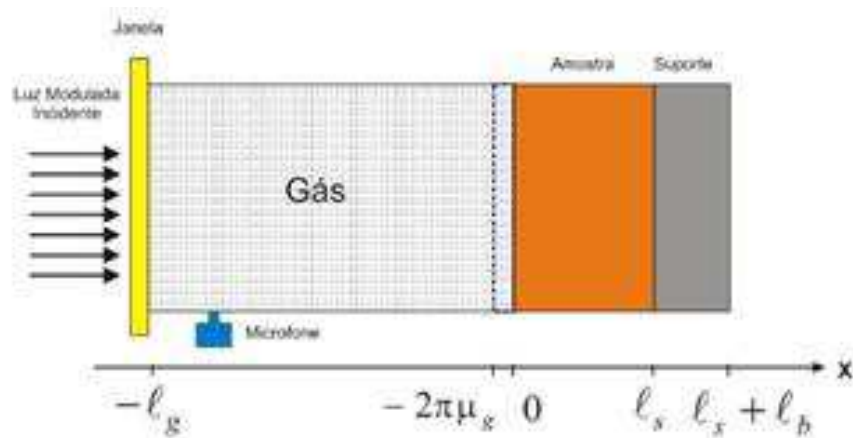


Figura 4.6 – Modelo Geométrico de RG para a Célula Fotoacústica [36].

## 4.5. Espectrômetro Fotoacústico

É um aparelho amplamente utilizado em laboratórios, cuja função é medir e comparar a quantidade de luz (energia radiante) absorvida por uma determinada amostra. Também usado para medir (identificar e determinar) a concentração de substâncias, que absorvem energia radiante, em um material. Este aparelho possui uma gama de aplicações e está presente em várias áreas, tais como em Química, Física e Bioquímica.

### 4.5.1. Elementos de Espectroscopia Fotoacústica

O Espectrômetro Fotoacústico do Laboratório da Unidade de Física da Universidade Federal de Campina Grande é constituído de três partes principais: Fonte de Radiação e Excitação, Câmara Experimental (detector fotoacústico) e Sistema de Aquisição de Dados, os quais tem suas partes detalhadas a seguir.

Na Figura 4.7 encontra esquematizado o diagrama em bloco do espectrômetro fotoacústico.

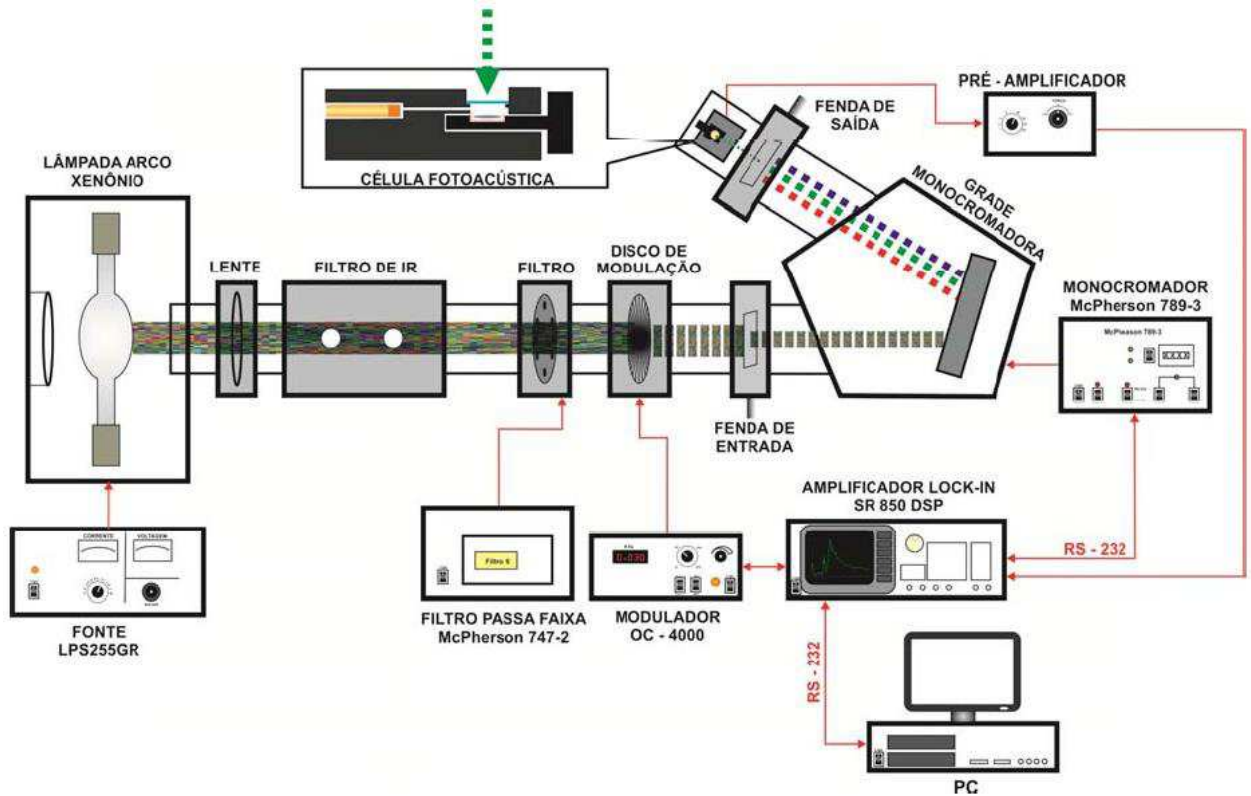


Figura 4.7 – Diagrama do Espectrômetro Fotoacústico [39].

A Fonte de Radiação e Excitação é composta por todas as partes que permitem obter a radiação usada na técnica de fotoacústica, ou seja, luz monocromática e modulada, na região UV-Visível do espectro eletromagnético.

- Fonte de Potência LPS255HR e Lâmpada de Arco de Xenônio de 1000 w;
- Conjunto de Lentes Colimadoras;
- Conjunto de Filtros: Filtro IR (sistema de circulação d'água) e Disco de Filtro com Controle McPherson 747-2 (filtro passa faixa);
- Modulador Ótico (disco com ranhuras na superfície espaçadas igualmente) com Controle DC-4000 PTI de frequência de rotação do modulador;
- Monocromador de Varredura (grade de difração, resolução = 0,7nm) com Controle de Varredura McPherson 789A-3 (motor de passo).

A Câmara Experimental é composta por todas as partes que possibilitam detectar o sinal fotoacústico, permitindo a conversão de luz modulada (ótica) em gradiente de temperatura e de pressão na câmara (térmico-acústico).

- Célula Fotoacústica Fechada MTEC 200;
- Pré-Amplificador;
- Porta Amostra.

A Aquisição de Dados é composto por todas as partes que transformam, armazenam e exibem o sinal fotoacústico de forma que possam ser usados os dados obtidos.

- Amplificador Lock-In de dupla fase Stanford da Research Systems modelo SR850 DSP;
- Microcomputador.

#### **4.5.2. Princípios de Funcionamento do Espectrômetro Fotoacústico**

Descreveremos o funcionamento das três partes que compõem o espectrômetro, acima citadas, conforme se usou nessa experiência:

##### a) Fonte de radiação e excitação espectroscópica

Usou-se uma lâmpada de Arco Xenônio de 1000 W, alimentada por uma fonte de potência modelo LPS255HR que emite radiação de forma praticamente contínua no UV–Visível entre 200nm à 750nm. A radiação emitida pode ser considerada continua em todos os comprimentos de onda UV–Visível, e é conhecida como luz branca. A luz branca passa inicialmente por um conjunto de lentes para colimar o feixe. Depois de colimado, o feixe de luz percorre um conjunto de filtros. O Filtro IR que é composto por um tubo vedado nas extremidades por dois vidros por onde passa a radiação, contendo água fria que circula no mesmo, através de um sistema de circulação e refrigeração, retira parte da radiação IR da lâmpada, ou seja, calor, na sequência a radiação passa por um filtro para eliminar harmônicos de segunda ordem.

Logo após a luz é modulada, conforme exige a PAS, a função modular é formada por um Modulador Ótico eletromecânico, modelo DC-4000 PTI, com intervalo de variação de 1Hz até 1kHz. A frequência de modulação é escolhida de acordo com a teoria de Rosencwaig e Gersho (1980) dependendo do material analisado. Neste trabalho estamos usando a modulação de 30hz aproximadamente, que é a mais adequada. A penetração do sinal na amostra está relacionada com a frequência de modulação, de forma que, a penetração do sinal é inversamente proporcional à frequência, quanto menor é a frequência de modulação, maior é a intensidade do sinal fotoacústico, de acordo com Rosencwaig e Gersho (1980) [34].

Na sequência, antes de chegar à câmara fotoacústica, a radiação modulada passa por um conjunto de duas fendas (horizontal e vertical), na entrada da cavidade do monocromador, para dar forma e, conseqüentemente, controlar a intensidade do feixe de luz branca, antes de ser separada em luz monocromática. A radiação modulada, ao atingir à grade de difração com resolução de 0,7nm, que está fixada em um eixo móvel girante, conectado a um motor de passo da McPherson, modelo 789A-3, a luz é então difratada e suas componentes monocromáticas no UV-Visível são utilizadas na varredura em comprimento de onda e conseqüente obtenção do sinal fotoacústico.

A luz monocromática é modulada e passa por um conjunto de fendas (horizontal e vertical) na saída da cavidade do monocromador, para receber ajuste no formato e intensidade da luz. Assim, a luz modulada está preparada para incidir na amostra, dentro da câmara experimental, onde o sinal fotoacústico é produzido.

#### b) Câmara Experimental (Detector fotoacústico)

Essa luz monocromática modulada incide em uma janela de vidro de quartzo da célula fotoacústica, atingindo a amostra que está localizada na porta amostra inserido dentro da célula fotoacústica a pressão normal, ao ser absorvida, a radiação gera um gradiente de temperatura na amostra, como a amostra está em contato com o gás (ar) da célula fotoacústica, um gradiente de pressão é gerado no ar através deste, sendo detectado por um microfone de alta sensibilidade (0,50mV/Pa), pré-polarizado, que faz parte do detector fotoacústico. Assim, sempre que houver uma transição na região UV-Visível, um sinal fotoacústico é observado Figura 4.8.



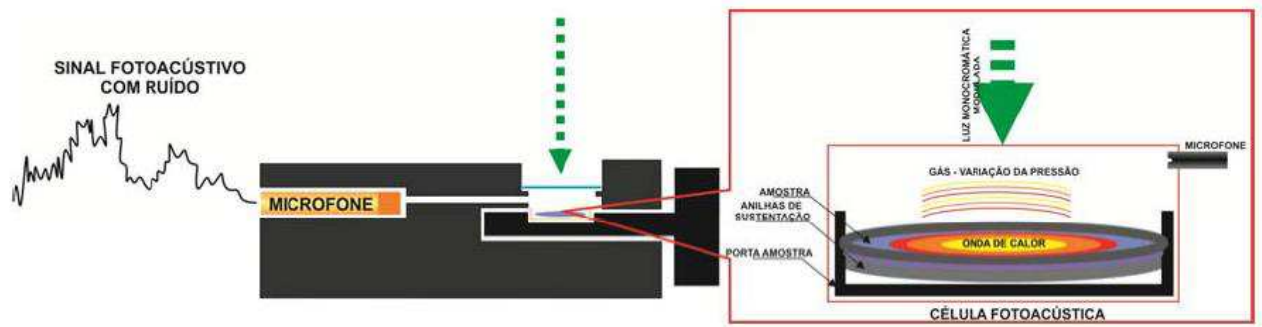


Figura 4.8 – Detalhes da célula fotoacústica e do sinal fotoacústico detectado [39].

O sinal acústico captado pelo microfone é de baixa intensidade, portanto, deve ser pré-amplificado antes de ser enviado ao amplificador principal (Lock-In). O sinal fotoacústico é convertido em elétrico na célula fotoacústica e pré-amplificado, resultando numa relação sinal/ruído otimizada Figura 4.9 para que possa ser processado pelo “Lock-In”. Usou-se um ganho entre 8 a 16 dB para as amostras investigadas.



Figura 4.9 – Relação sinal/ruído no pré-amplificador [39].

### c) Aquisição de Dados

O sinal pré-amplificado é enviado ao Lock-In da Stanford, SR850 DSP, que faz uma nova amplificação, depois registra e armazena os dados experimentais. O sinal do “Lock-In” é, então, armazenado em um computador que faz a aquisição de dados, em forma de tabela XY que são usados na confecção dos respectivos espectros PAS, além de controlar automaticamente a operação do equipamento, via porta de comunicação RS232, Figura 4.10.

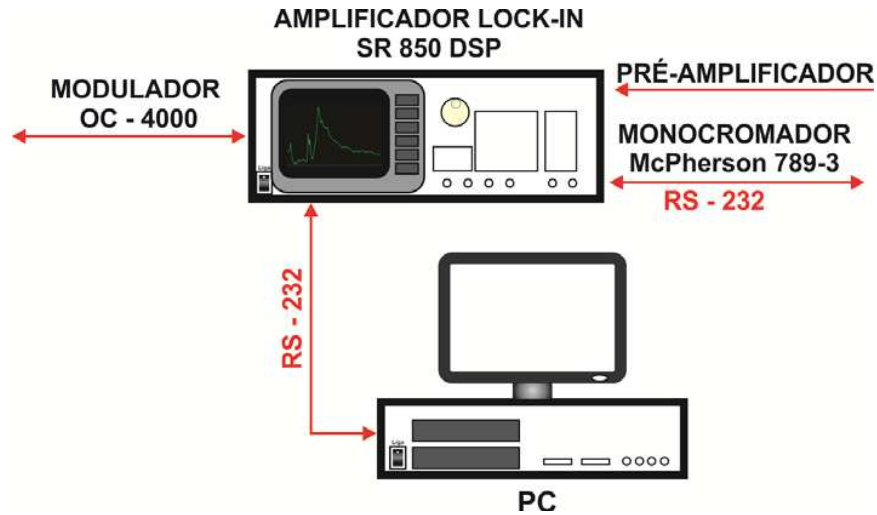


Figura 4.10 – Aquisição de dados, Amplificador Lock-In e computador para armazenamento e processamento do sinal fotoacústico [39].

#### 4.6. Acumulação espectral

Para cada amostra, inclusive o negro fumo, de onde se obtêm o espectro de emissão da lâmpada (base para normalização), foram acumuladas 5 (cinco) medidas em média, cada uma com duração de 10 (dez) min. (Figura 4.11), dessa maneira, minimizou o ruído durante obtenção dos espectros.

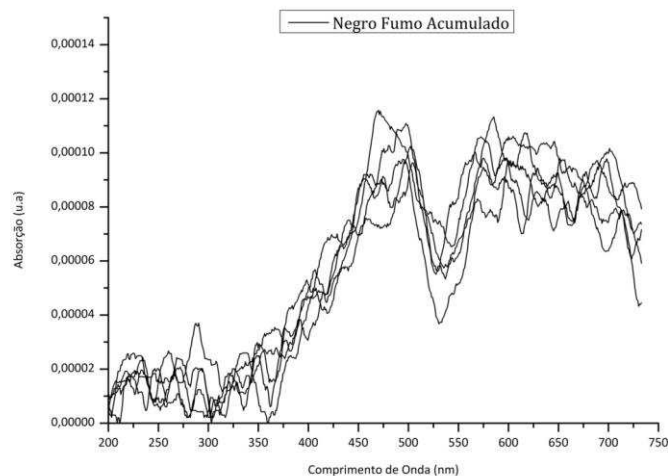


Figura 4.11 – Espectros PAS acumulados do negro fumo.

#### 4.7. As amostras

O preparo das amostras (Figura 4.12) é feito de forma simples, não alterando o seu estado natural, “in vivo”. O processo de preparação consistiu em dimensionar a amostra para colocar dentro do porta amostra e que tem as dimensões de 3 mm de espessura por 9 mm de diâmetro.



Figura 4.32 – Porta amostras da célula PAS [39].

#### 4.8. Normalização dos espectros

Como já foi dito anteriormente, a lâmpada de xenônio emite luz branca com intensidade variável em função do comprimento de onda. Assim é necessária a normalização dos espectros fotoacústicos das amostras para eliminar os efeitos da lâmpada. Para obter o espectro de emissão da lâmpada foi utilizado um disco de corpo negro (negro fumo), pois o espectro de absorção de um corpo negro quase perfeito reproduz o espectro de emissão da lâmpada [40]. O sinal efetivo detectado é dado por:

$$S_{ef} = S_A \cdot S_L \quad , \quad (4.7)$$

Onde  $S_A$  e  $S_L$  são os sinais da amostra e da lâmpada, respectivamente. Deste modo, ao normalizarmos, obtemos o espectro puro da amostra:

$$S_A = \frac{S_{ef}}{S_L} \quad . \quad (4.8)$$

## 5. Resultados e Discussões

Neste capítulo, serão apresentados os resultados obtidos mediante utilização da técnica PAS, nas diversas amostras “In natura” como: Açaí, Cupuaçu, Castanha do Brasil, Maçã vermelha, Uva Globe, Uva Preta, Uva Rubi, Acerola, Caju Vermelho, Caju Amarelo, Caqui, Cebola Roxa, Cenoura e Tomate.

A partir desses resultados nós identificamos as diversas Biomoléculas Funcionais dos grupos flavonóide e carotenóide existentes em cada amostra. As medidas foram realizadas nos comprimentos de onda: de 200 a 750 nm, ou seja, a região que abrange as regiões do UV e do Visível, de 200 a 400 nm e de 400 a 750 nm, respectivamente. Aqui estão colocados alguns dos espectros pesquisados, e suas Biomoléculas Funcionais encontradas. Os números em cada pico de absorção representam os  $\lambda_{\max}$ , ou seja, os comprimento de onda dos diversos picos de absorção observados.

As Figuras 5.1 e 5.2 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para o Açaí (*Euterpe Oleracea Mart*). Esses conjuntos de valores de  $\lambda_{\max}$  foram utilizados para identificar as diversas moléculas bioativas presente no Açaí.

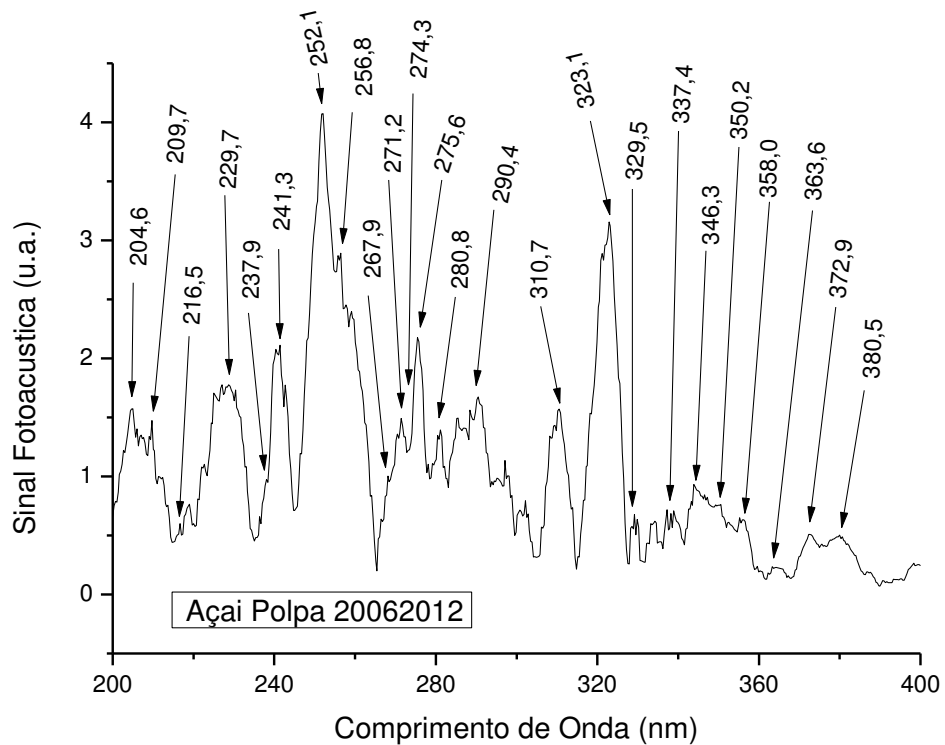


Figura 5.1 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Açaí.

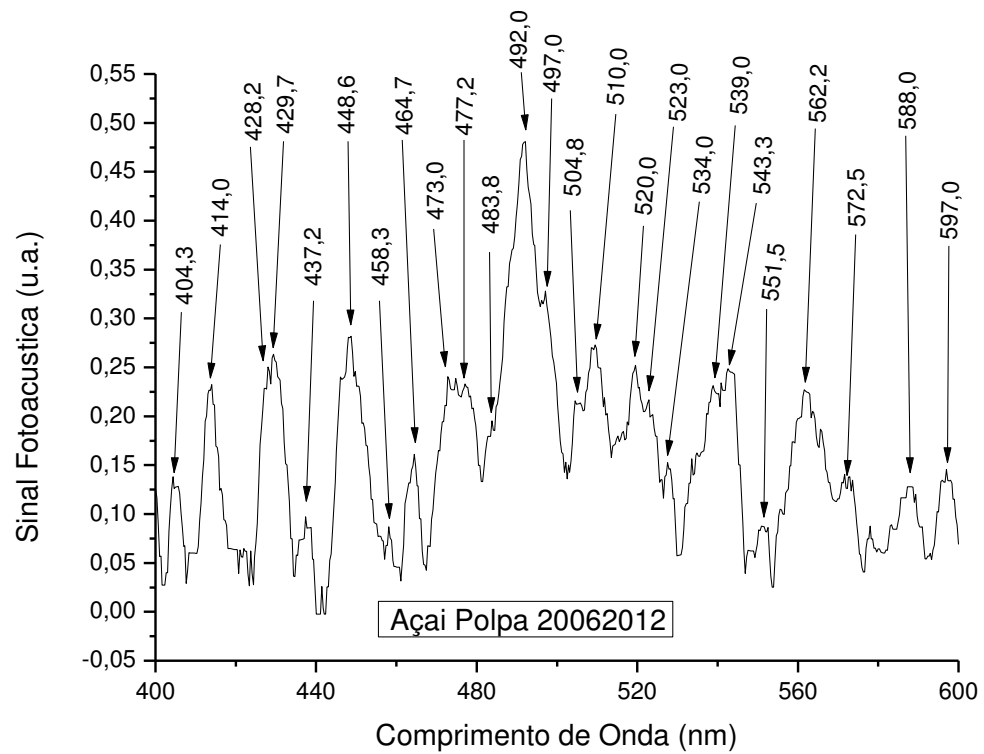


Figura 5.2 – Espectro fotoacústico no Visível de 400 a 600 nm no Açai.

Em todas as Tabelas utilizadas, usamos o UV–Visível com seus comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  na primeira coluna, como padrão, são dados retirados da literatura, para identificação das Biomoléculas Funcionais pela técnica PAS.

Os resultados das análises encontram-se expostos na Tabela 5.1, ou seja, os comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e os padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas no Açai.

Tabela 5.1 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Açáí (*Euterpe Olerácea Mart*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidin-3-gluc	267/280	313/325	495/505	280,8	323	492
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	275	323	510
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	280,8	311	520
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	280,8	311	523
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	238/271	275,6/337	539
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	280,8	310,7	543
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		230	281	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		230	275	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	252,1	337,4	473
2.4	Miricetina	256	354,4	372	257	350	373
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	257	268	350
2.6	Orientina	255	267	346	256	268	346,3
2.7	Homoorientina	255	271	350	256	271,2	350,2
2.8	Quercetina	256	300-312	374-384	257	311	373
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254-273	350-363	216,5	274	363,6
2.10	Rutina	256	266	355/358	256,8	267,9	350,2
2.11	Isoquercetina	262	350		256,8	350,2	
2.12	Kaempferol	262	318	346/363	267,9	323,1	346,2
2.13	Kaempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	238	256,8	350,2
2.14	Resveratrol	220-230	300-340		229,7	323	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		271,2	337,4
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		252,1	346,2	
2.17	Taxifolina/deoxyhexose	295	340		290,4	337,4	
2.18	Proantocianina	217-220	265-270	280	216,5	271,2	280,8
2.19	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	280,8	464,7	543,3
2.20	Retinol	205	330		205	330	
2.21	$\alpha$ -Tocoferol	205	280		205	281	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		238	271,2	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		238	271	
3.3	Ácido Clorogênico	240-248	300-318	320-326	241,3	310	323
3.4	Ácido Ferúlico	248	323		252	323	
3.5	Ácido Elágico	253	367		252	364	
3.6	Ácido Ascórbico		265/267			267	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoxantina	416	438	468	414	437	465
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	414	437	465
4.3	Luteína	420	444/447	472	428	448	473
4.4	Zeaxantina	423	448	482	428	449	484
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	428	449	484

Como mostra a Tabela 5.1, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis, bem como dos Carotenóides, que foram identificadas no Açaí são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc e malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas detectadas no Açaí, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS do Açaí (Figura 5.2), atribuídos às antocianinas indica que a pelargonidina-3-gluc, a cianidina-3-gluc, a mavinidina-3-gluc e a delphinidina-3-gluc, são as antocianinas preponderantes no Açaí, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que apenas a cianidina-3-gluc e a cianidina-3-rutin estão nesta substância [41, 42].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianinas e taninos condensados. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.1), atribuídos aos flavonóis indica que piranocianidina B, a miricetina, a luteolina, o kaempferol e o resveratrol são os flavonóis preponderantes no Açaí, em ordem decrescente de concentração. Os dados da literatura indicam que (+)-catequina, (-)-epicatequina e as procianidinas estão nesta substância [41, 42].

**Ácidos Fenólicos:** ácido gálico, vanílico, clorogênico, ferúlico, elágico e ascórbico (Vitamina C). Nossos dados experimentais de PAS para o Açaí são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta, obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.1), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido clorogênico, o ácido ferúlico e o ácido elágico são os ácidos predominantes no Açaí, em ordem decrescente de concentração. Os dados da literatura indicam que o Açaí contém ácido ascórbico, ácido vanílico, ácido gálico e ácido ferúlico [41, 42].

**Carotenóides:** A Tabela 5.1 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes no Açaí, tem-se uma boa

concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

Os Dados de PAS do Laboratório de Espectroscopia Fotoacústica da UAF-UFCG são de alta resolução (0,7 nm). Por isso foi possível distinguir linhas de absorção muito próximas em comprimentos de onda. Um exemplo típico deste fato foram os espectros das seis antocianinas, para o Açaí cujas separações são da ordem de 10 nm e aparecem bem discriminadas em todos os casos onde elas foram observadas. A PAS é uma técnica de alta sensibilidade o que permitiu também detectar picos de absorção de biomoléculas em concentrações muito baixas ou até mesmo traços (concentrações próximas de zero). Esta é a principal razão pela qual, em todas as espécies investigadas neste trabalho, o número de biomoléculas observadas em todos os casos foi sempre maior do que aqueles referenciados na literatura.

As Figuras 5.3 e 5.4 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra do Cupuaçu (*Theobroma Gradflorum*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 400 a 600 nm. Os números em cada pico de absorção representam os  $\lambda_{\max}$  (comprimentos de onda dos diversos picos de absorção observados). Esse conjunto de valores de  $\lambda_{\max}$  foi utilizado para identificar as diversas moléculas bioativas presentes no Cupuaçu. Os resultados de nossa análise se encontram expostos na tabela 5.2.

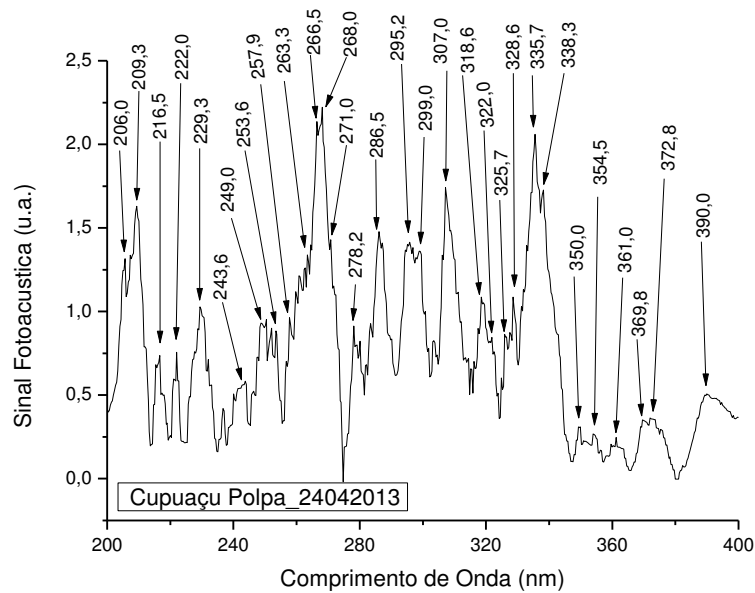


Figura 5.3 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Cupuaçu.



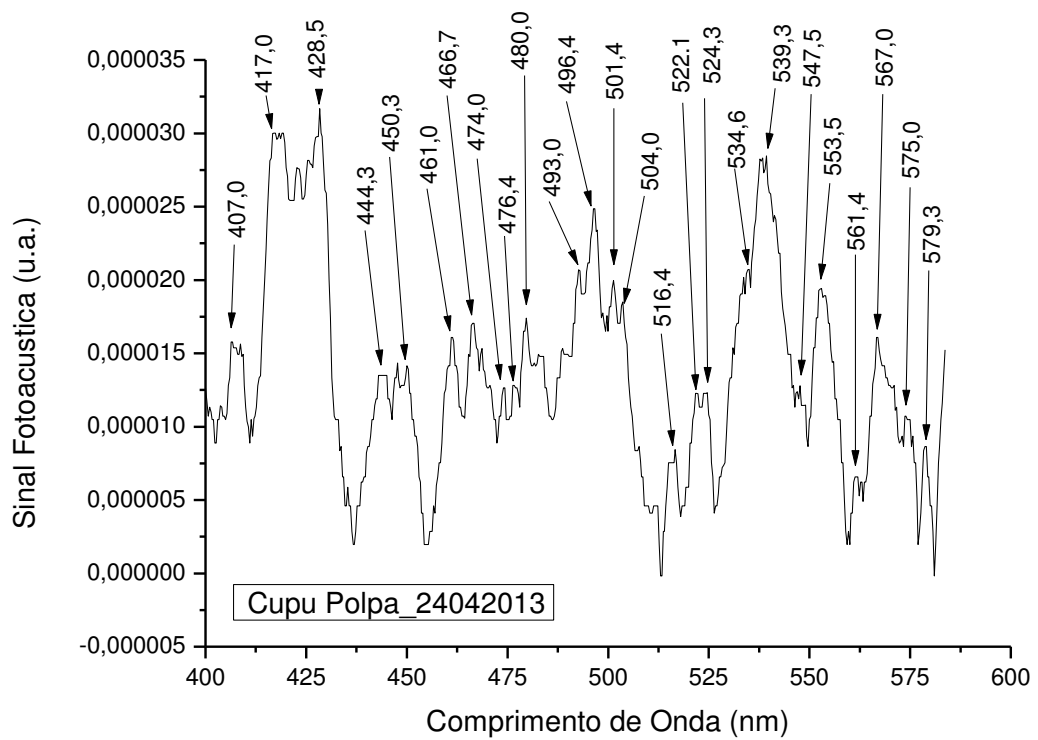


Figura 5.4 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm no Cupuaçu.

Na Tabela 5.2 encontram-se os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , obtidos via PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas no Cupuaçu.

Tabela 5.2 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Cupuaçu (*Theobroma Grandiflorum*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	278	322	496
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	280,5	328,6	516
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	280,5	312	522
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	280,5	307	524
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	239	278	539
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	280	312	546
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		230	278	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		230	275	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	251,8	342,5	474
2.4	Miricetina	256	354,4	372	257	354,5	372
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	258	266,5	361
2.6	Orientina	255	267	346	256	268	346,8
2.7	Homoorientina	255	271	350	256	271	350
2.8	Quercetina	256	300/312	374/384	256	312	373
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	216,5	272	361,5
2.10	Rutina	256	266	355/358	256	266,5	354,5
2.11	Isoquercetina	262	350		262	350	
2.12	Kaempherol	266	318	346/363	266,5	318,6	346,8/361,5
2.13	Kaempherol-3-gluc	238	255/262	346/350	239	256	350
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		222,5	300,4	
2.15	Isovit./Apigenina-3-gluc		271	336		271	335,7
2.16	Flavona/ Luteolina	254	346		253,6	346,8	
2.17	Taxifolina/Deoxyhexose		295	340		296	342,5
2.18	Proantocianina	217/220	265/270	280	216,5	266,5	280,5
2.19	Proant. Tan. Cond.	280	464	546	280,5	466,7	547,5
2.20	Retinol	205	330		206	329	
2.21	$\alpha$ -Tocoferol	205	280		206	281	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		239	271	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		239	271	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	248	317	325
3.4	Ácido Benzóico	247	367		248,3	372	
3.5	Ácido Ferúlico	248	323		248,3	322	
3.6	Ácido Elágico	253	367		253,6	361,5	
3.7	Ácido Ascórbico		265/267			266,5	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoaxantina	416	438	468	417	444	467
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	417	444	461
4.3	Luteína	420	444/447	472	428	444	474
4.4	Zeaxantina	423	448	482	428	448	480
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	428	450	480
4.6	Licopeno	443	472	502	444	474	502

Como mostra a Tabela 5.2, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas no Cupuaçu são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que foram detectados traços de todas as seis principais antocianinas glicosadas no Cupuaçu, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS do Cupuaçu (Figura 5.4), atribuídos às antocianinas indica que a delphinidina-3-gluc e a pelargonidina-3-gluc, são as antocianinas preponderantes no Cupuaçu, em ordem decrescente de concentração. Nos dados da literatura no UV-Visível convencional não foram encontrados biomoléculas de antocianinas nesta substância [41, 42].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianina, tanino condensado. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.3), atribuídos aos flavonóis indica que a taxifolina, piranocianidina B, a miricetina, o tanino condensado, e o resveratrol são os flavonóis preponderantes no Cupuaçu, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que a (+)-catequina, (-)-epicatequina, isovitexina, quercetina-3-gluc, quercetina, kaempferol, procianidina e o tanino condensado, são os flavonóis detectados nesta substância [43].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, benzóico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtidos para o Cupuaçu são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.3), atribuídos aos ácidos fenólicos indicam que o ácido benzóico, o ácido ferúlico, o ácido clorogênico e o ácido ascórbico são os ácidos predominantes no Cupuaçu, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que, no Cupuaçu o ácido oléico e o ácido esteárico, são os ácidos preponderantes. Há também um alto teor de vitamina C e carotenóides [43].

**Carotenóides:** A Tabela 5.2 também resume os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrados na literatura [27] para os extracta e os nossos dados experimentais

de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes no Cupuaçu. Como pode ser visto, há boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os constantes na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.5 e 5.6 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra da Castanha do Brasil (*Bertholletia Excelsa*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 350 a 750 nm. Os números em cada pico de absorção representam os  $\lambda_{\max}$  (comprimentos de onda dos diversos picos de absorção observados).

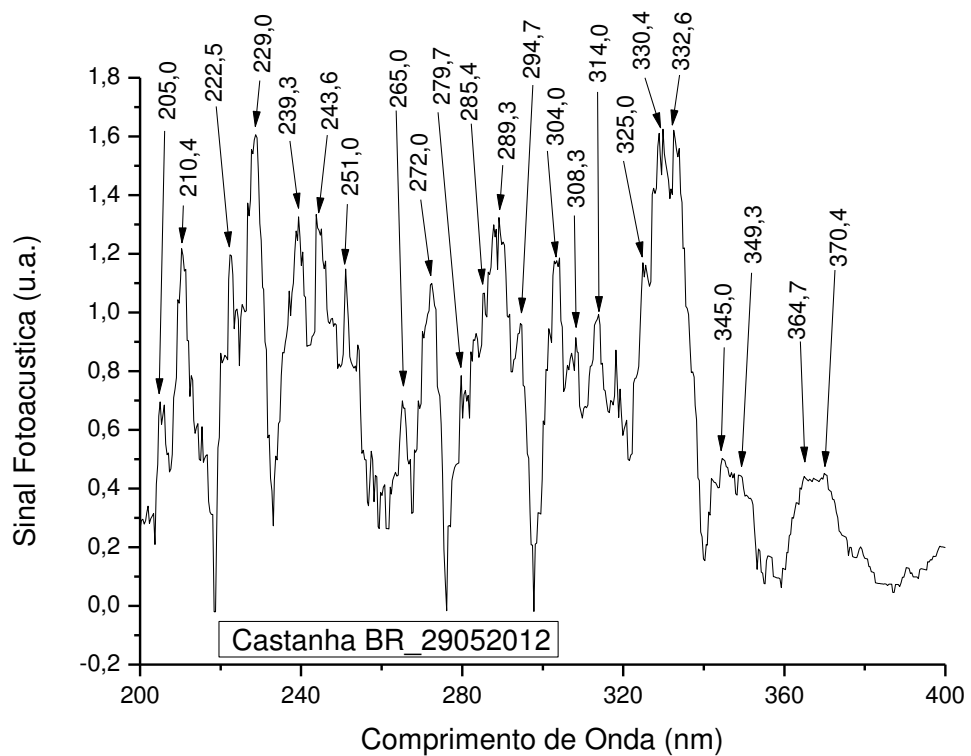


Figura 5.5 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Castanha do Brasil.

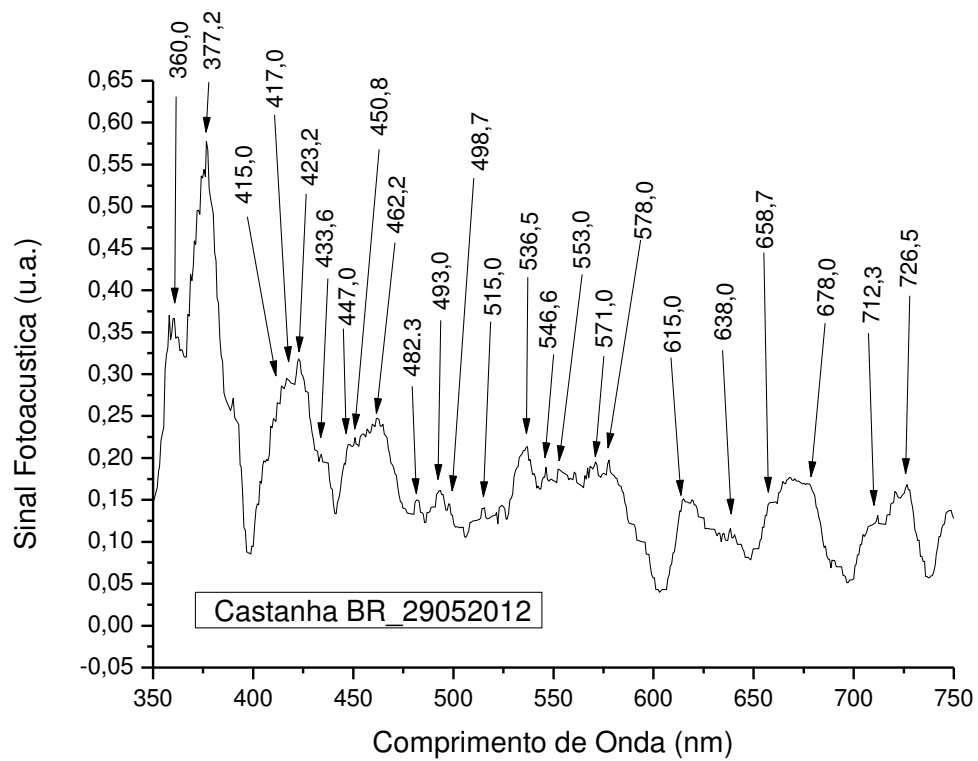


Figura 5.6 – Espectro fotoacústico no UV-Vis de 350 a 750 nm na Castanha do Brasil.

Encontra-se na Tabela 5.3 os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas na Castanha do Brasil.

Tabela 5.3 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Castanha do Brasil (*Bertholletia Excelsa*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	280,4	325	499
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	280,4	315,4	515
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	280,4;	308	515
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	280,4	304	536
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	272	332,6	536
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	280,4	314	546
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		233,6	280	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		229	279,7	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	251	339	462,2
2.4	Miricetina	256	354,4	372	256	349	370
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	258	269,3	360
2.6	Orientina	255	267	346	255,7	266	345
2.7	Homoorientina	255	271	350	255,7	272	349,3
2.8	Quercetina	256	300/312	374/384	255,7	304	377,2
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	215	272	360,4
2.10	Rutina	256	266	355/358	255,7	266	360
2.11	Isoquercetina	262	350		265	349,3	
2.12	Kaempferol	262	318	346/363	258	315,4	345
2.13	Kaempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	238,6	255,7	349,3
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		223	327,5	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		272	332,6
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		254,3	345	
2.17	Proantocianina	217/220	265/270	280	215	272	280,4
2.18	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	280,4	462,2	546,6
2.19	Retinol	205	330		205	330,4	
2.20	$\alpha$ - Tocoferol	205	280		205	280	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		239,3	272	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		238,6	272	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	247,5	315,4	325
3.4	Ácido Benzoico	247	367		247,5	364,7	
3.5	Ácido Ferúlico	248	323		247,5	325	
3.6	Ácido Elágico	253	367		254,3	364,7	
3.7	Ácido Ascórbico		265/267			265	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoxantina	416	438	468	417	434	462
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	415	434	462
4.3	Luteína	420	444/447	472	423	450	474
4.4	Zeaxantina	423	448	482	428	450	480
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	428	450	480
4,5	Licopeno	443	472	502	442	472	503

Como mostra a Tabela 5.3, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides foram identificadas na Castanha do Brasil:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas na Castanha do Brasil, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS da Castanha do Brasil (Figura 5.6), atribuídos às antocianinas indica que a petunidina-3-gluc e a delphinidina-3-gluc, são as antocianinas preponderantes na Castanha do Brasil, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que existe uma baixa concentração de antocianinas na Castanha do Brasil [44, 45], apesar da baixa concentração das antocianinas, nós conseguimos detectar e definir as antocianinas existentes.

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, proantocianina, tanino condensado, retinol e  $\alpha$  - tocopherol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.5), atribuídos aos flavonóis indica que o resveratrol, a apigenina-3-gluc, a proantocianina, o tanino condensado, a (-)-epicatequina e piranocianidina B são os flavonóis preponderantes na Castanha do Brasil, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que a existem altos teor de flavonóides, tocoferol e baixa quantidade de carotenóides estão nesta substância [44, 45].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, benzóico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para a Castanha do Brasil são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.5), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido gálico e o ácido clorogênico são os ácidos predominante na Castanha do Brasil, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que na Castanha do Brasil tem ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico e ácido linoleico [44, 45].

**Carotenóides:** A Tabela 5.3 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de

onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes na Castanha do Brasil, tem-se uma boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.7 e 5.8 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra da Maçã (*Malus Domestica Borkh*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 350 a 750 nm.

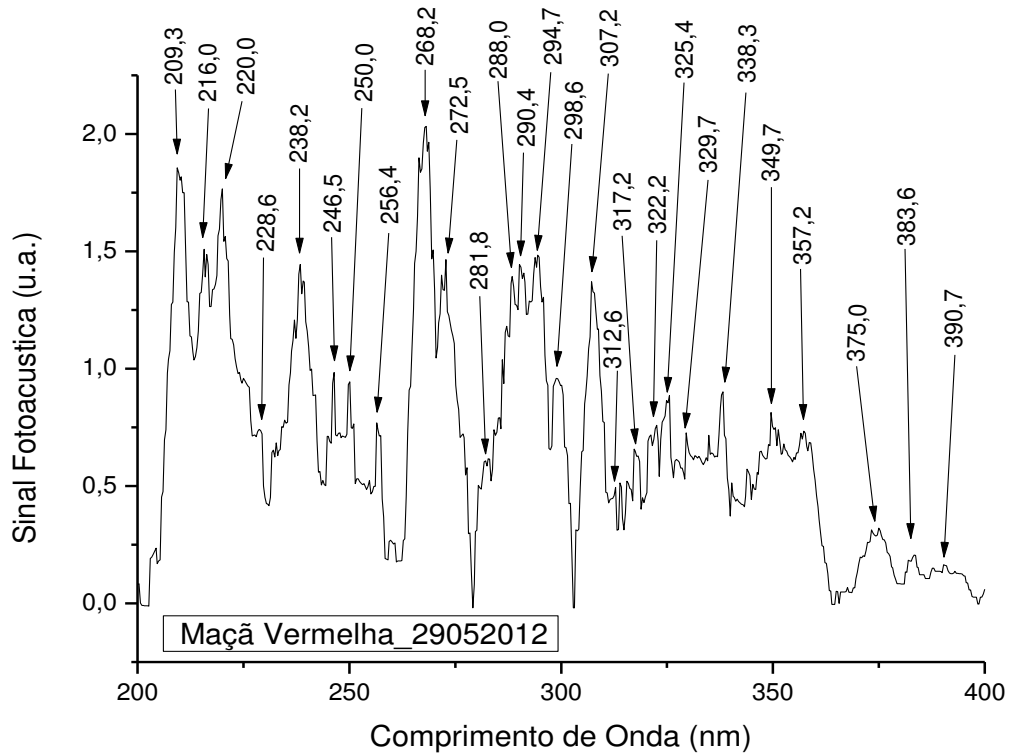


Figura 5.7 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Maçã.



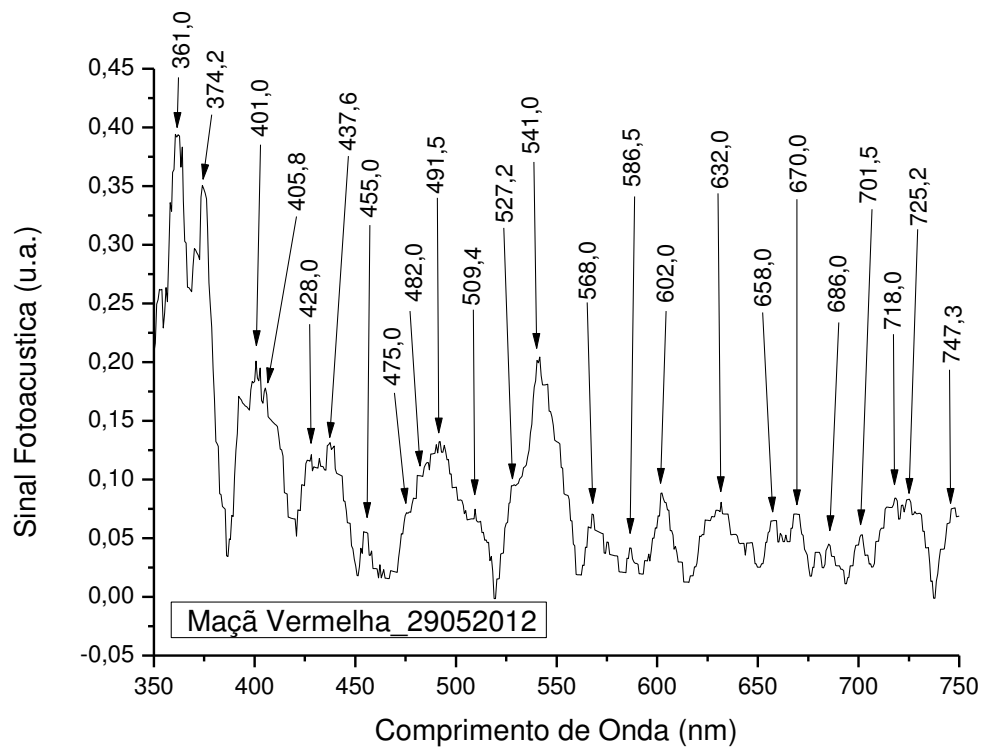


Figura 5.8 – Espectro fotoacústico no UV-Visível de 350 a 750 nm na Maçã.

Na Tabela 5.4 encontram-se os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , obtidos via PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas na Maçã.

Tabela 5.4 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Maçã (*Malus Domestica Borkh*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	282	325,4	491
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	282	317,2	509
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	282	312,6	527
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	282	307	527
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	272,5	338,3	541
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	282	312,6	541
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		228,6	282	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		228,6	272,5	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	250	338,3	475
2.4	Miricetina	256	354,4	372	256,4	357	375
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	256,4	268,2	357,2
2.6	Orientina	255	267	346	256,4	268,2	349,7
2.7	Homoorientina	255	271	350	256,4	272,5	349,7
2.8	Quercetina	256	300-312	374-384	256,4	312,6	375
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254-273	350-363	216	272,5	357
2.10	Rutina	256	266	355/358	256,4	268,2	357
2.11	Isoquercetina	262	350		268	349,7	
2.12	Kaempferol	262	318	346/363	268	317	349,7
2.13	Kaempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	238	256,4	349,7
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		220	338	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		272,5	338
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		256,4	349,7	
2.17	Proantocianina	217/220	265/270	280	216	268	282
2.18	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	282		541
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		238	272,5	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		238	272,5	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	246,5	317	325,4
3.4	Ácido Ferúlico	248	323		246,5	322	
3.5	Ácido Elágico	253	367		250	361	
3.6	Ácido Ascórbico		265/267			268	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Zeaxantina	423	448	482	428	455	482
4.2	$\beta$ - Caroteno	425	451	482	428	455	482
4.3	Licopeno	443	472	502	442,6	475	509

Como mostra esta Tabela 5.4, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas na Maçã são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas na Maçã, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS da Maçã (Figura 5.8), atribuídos às antocianinas indica que a delphinidina-3-gluc e a mavinidina-3gluc são as antocianinas preponderantes na Maçã, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que apenas a cianidina e a cianidina-3-gluc estão presente nesta substância [46].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianina. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.7), atribuídos aos flavonóis indica que a orientina, a rutina, a miricetina-3-gluc, isoquercetina, o kaempferol, o resveratrol e o kaempferol-3-gluc são os flavonóis preponderantes na Maçã, em ordem decrescente de concentração. Nos dados da literatura, indica que a procianidina, (+)-catequina, (-)-epicatequina e a rutina estão em maior concentração nesta substância [46].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, benzóico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para a Maçã são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.7), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido ascórbico e o gálico são os ácidos predominante na Maçã, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que na Maçã tem maior concentração o ácido clorogênico [46].

**Carotenóides:** A Tabela 5.4 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes na Maçã, tem-se uma boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.9 e 5.10 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra da Uva (*Vitis Vinífera L.*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 400 a 600 nm.

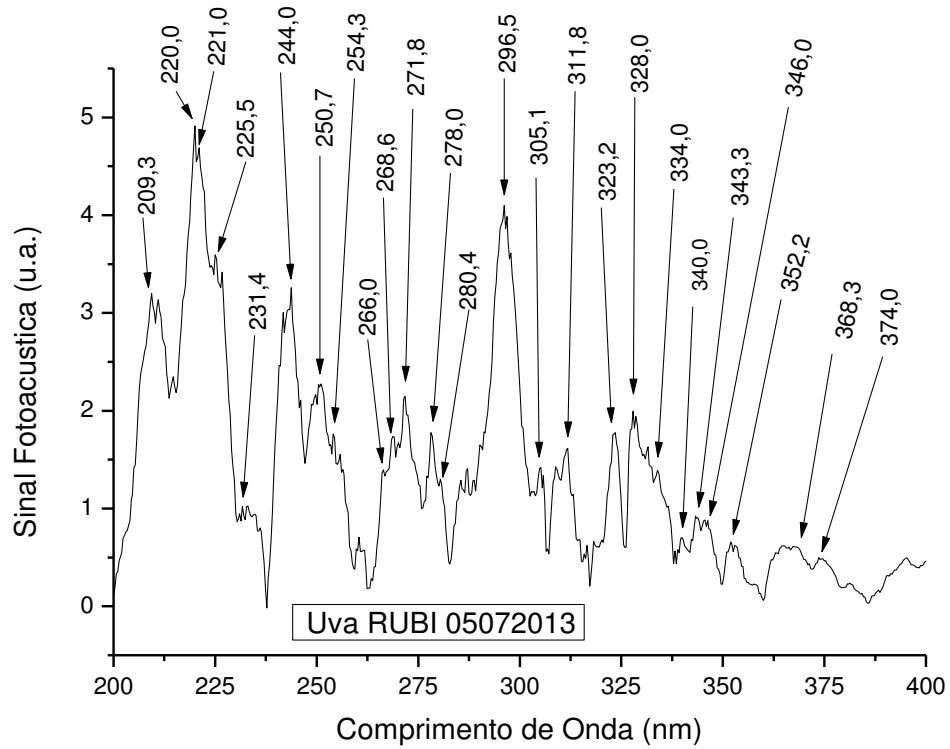


Figura 5.9 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Uva.

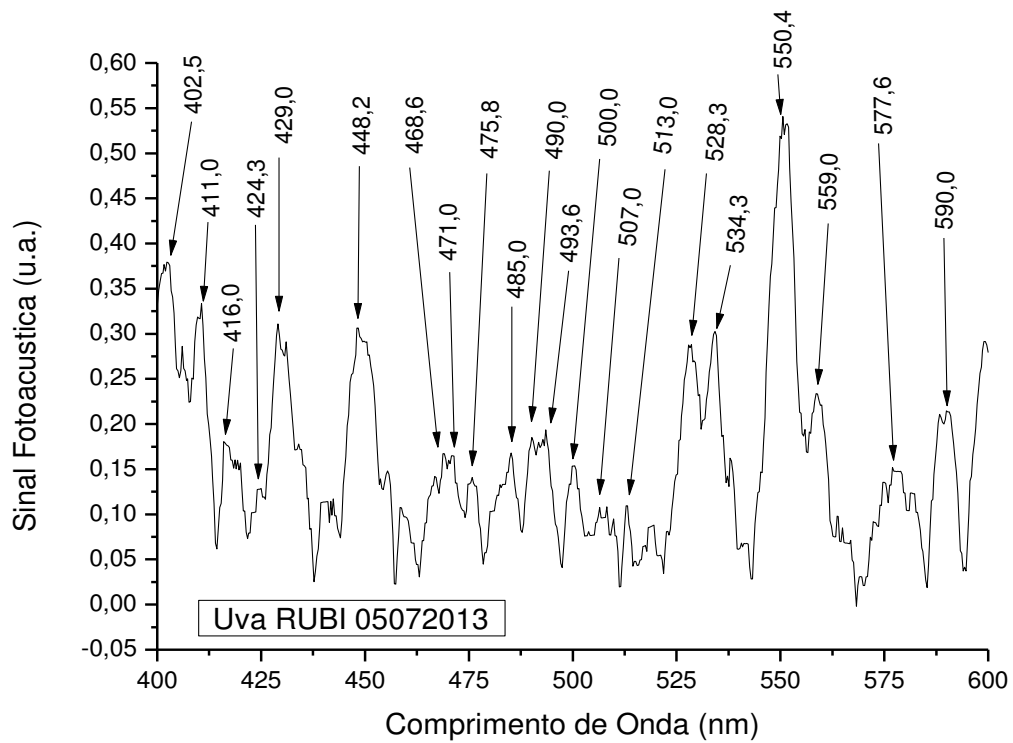


Figura 5.10 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Uva.

Encontra-se na Tabela 5.5 os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas na Uva.

Tabela 5.5 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Uva (*Vitis Vinífera L.*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	280,4	323	500
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	278	328	513
1.3	Peodina-3-gluc	280	311	515/520	280,4	312	522
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	281	305	527
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	272	278	534
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	280,4	312	550
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		231,4	278	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		231,4	278	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	250,7	340	471
2.4	Miricetina	256	354,4	372	254,3	352	374
2.5	Orientina	255	267	346	254,3	266	346
2.6	Homoorientina	255	271	350	254,3	271,8	350
2.7	Quercetina	256	300/312	374/384	254,3	312	374
2.8	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	220	272	352,2
2.9	Rutina	256	266	355/358	254,3	266	352,2
2.10	Isoquercetina	262	350		263	350	
2.11	Kaempferol	262	318	346/363	263	316,5	346
2.12	Kaempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	237	254,3	352,2
2.13	Resveratrol	220-230	300/340		220	340	
2.14	Isovitexina/Apigenina-3-gluc		271	336		272	334
2.15	Flavona/Luteolina	254	346		254,3	346	
2.16	Taxifolina/Deoxyhexose		295	340		296,5	340
2.17	Proantocianinas	217-220	265-270	280	220	272	280,4
2.18	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	280,4	463	550,4
2.19	Retinol	205	330		209	328	
2.20	$\alpha$ - Tocoferol	205	280		209	280	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		240	272	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		237	272	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	244	312	323
3.4	Ácido Benzoico	247	367		249	368,3	
3.5	Ácido Ferúlico	248	323		249	323	
3.6	Ácido Elágico	253	367		254,3	367,5	
3.7	Ácido Ascórbico		265/267			266	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoxantina	416	438	468	416	436	469
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	411	436	466
4.3	Luteína	420	444/447	472	420	448	471
4.4	Zeaxantina	423	448	482	424	448	485
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	424	448	485

Como mostra esta Tabela 5.5, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas na Uva são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas na Uva, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS da Uva (Figura 5.10), atribuídos às antocianinas indica que a malvinidina-3-gluc, a delphinidina-3-gluc e a petunidina-3-gluc são as antocianinas preponderantes na Uva, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que a malvidina, a peonidina, a cianidina, a petunidina e a delphinidina estão em maior concentração nesta substância [47, 48, 49].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianina, tanino condensado, retinol,  $\alpha$ -tocoferol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.9), atribuídos aos flavonóis indica que o resveratrol, a quercetina-3-gluc, a proantocianinas, a taxifolina e a apigenina-3-gluc são os flavonóis preponderantes na Uva, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que a (+)-catequina, (-)-epicatequina, quercetina-3-O-rutin, rutina, resveratrol, e o trans-resveratrol estão em maior concentração nesta substância [47, 48, 49].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, benzóico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para a Uva são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.9), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido clorogênico, o ácido gálico, o ácido benzóico e o ácido ferúlico são os ácidos predominante na Uva, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que na Uva tem ácido cumárico ácido caféico e ácido gálico [47, 48, 49].

**Carotenóides:** A Tabela 5.5 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes na Uva, tem-se uma boa

concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.11 e 5.12 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra da Acerola (*Malpighia Geabra L.*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 400 a 600 nm.

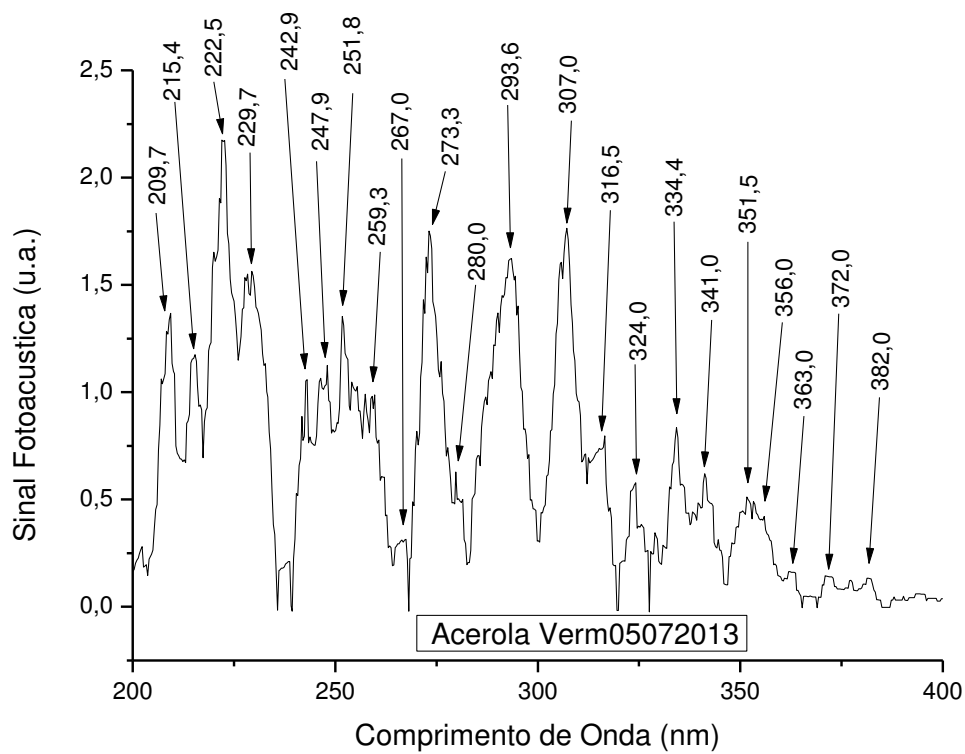


Figura 5.11 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Acerola.



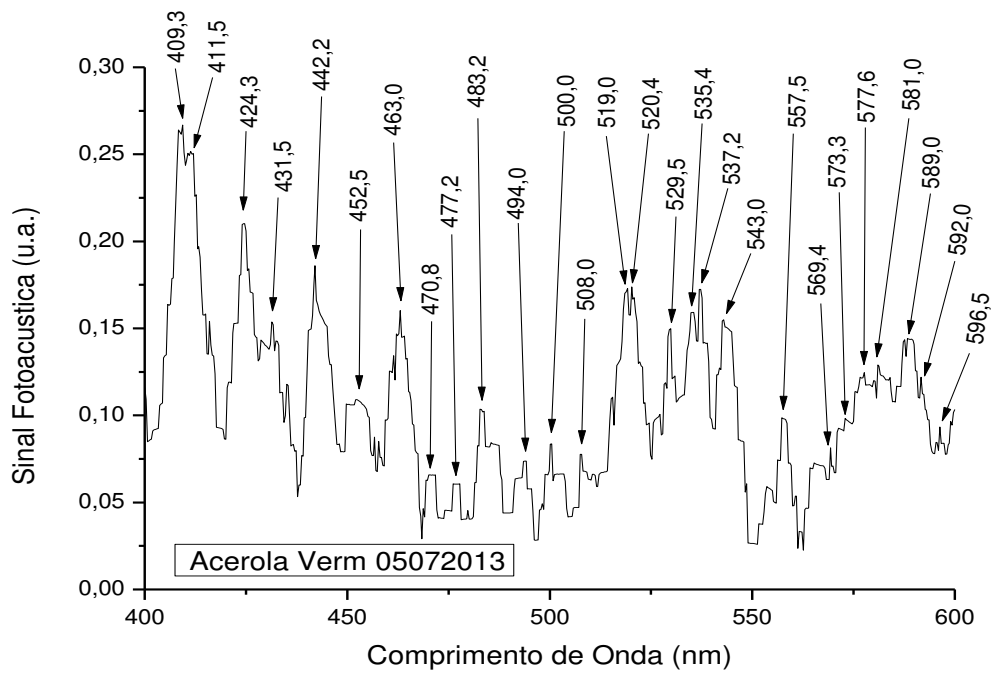


Figura 5.12 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Acerola.

Encontra-se na Tabela 5.6 os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas na Acerola.

Tabela 5.6 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Acerola (*Malpighia Geabra L.*)

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	280	324	500
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	280	316,6	508
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	280	316,5	520
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	280	307	529
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	271	334,4	537
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	280	313,3	543
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		229,7	280	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		229,7	273,3	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	252	341	471
2.4	Miricetina-3-gluc	258	267	358	259	267	359
2.5	Orientina	255	267	346	257	271	347,6
2.6	Homoorientina	255	271	350	257	271	350,7
2.7	Quercetina	256	300/312	374/384	257	307	382
2.8	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	215,4	273,3	363
2.9	Rutina	256	266	355/358	257	267	356
2.10	Miricetina	256	354,4	372	257	356	372
2.11	Isoquercetina	262	350		262	351,5	
2.12	Kaempherol	262	318	346/363	262	316,5	363
2.13	Kaempherol-3-gluc	238	255/262	346/350	238	262	351
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		222,5	307	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		271	334,4
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		252	347,6	
2.17	Taxifolina /Deoxyhexose	295	340		295,7	341	
2.18	Proantocianina	217/220	265/270	280	215,4	273,3	280
2.19	Taninos Cond. Procianidinas	280	464	546	280	463	543
2.20	Retinol	205	330		204	334	
2.21	$\alpha$ - Tocoferol	205	280		204	280	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		238	273,3	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		238	271	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	242,9	307	324
3.4	Ácido Benzóico	247	367		247,9	366	
3.5	Ácido Ferúlico	248	323		247,9	324	
3.6	Ácido Elágico	253	367		252	366	
3.7	Ácido Ascórbico		265/267			267	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoxantina	416	438	468	412	442	471
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	412	432	463
4.3	Luteína	420	444/447	472	424	453	471
4.4	Zeaxantina	423	448	482	424	453	483
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	424	453	483
4.6	Licopeno	443	472	502	442	471	500

Como mostra a Tabela 5.6, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas na Acerola são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas na Acerola, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS da Acerola (Figura 5.12), atribuídos às antocianinas indica que a peonidina-3-gluc e a delphinidina-3-gluc são as antocianinas preponderantes na Acerola, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que apenas a pelargonidina-3-O-rham e a cianidina-3-O-rham estão em maior concentração nesta substância [50, 51].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianina, tanino condensado, retinol e  $\alpha$ -tocoferol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.11), atribuídos aos flavonóis indica que o resveratrol, a quercetina-3-gluc, a (-)-epicatequina e a proantocianina são os flavonóis preponderantes na Acerola, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que a quercetina e o kaempferol, estão em maior concentração nesta substância [50, 51].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, benzóico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para a Acerola são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.11), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido gálico, ácido clorogênico e o ácido elágico são os ácidos predominante na Acerola, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que na Acerola tem ácido clorogênico, ácido caféico, ácido cumárico e ácido ferúlico [50, 51].

**Carotenóides:** A Tabela 5.6 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes na Acerola, tem-se uma

boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.13 e 5.14 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra do Caju (*Anacardium Occidentale L*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 400 a 600 nm.

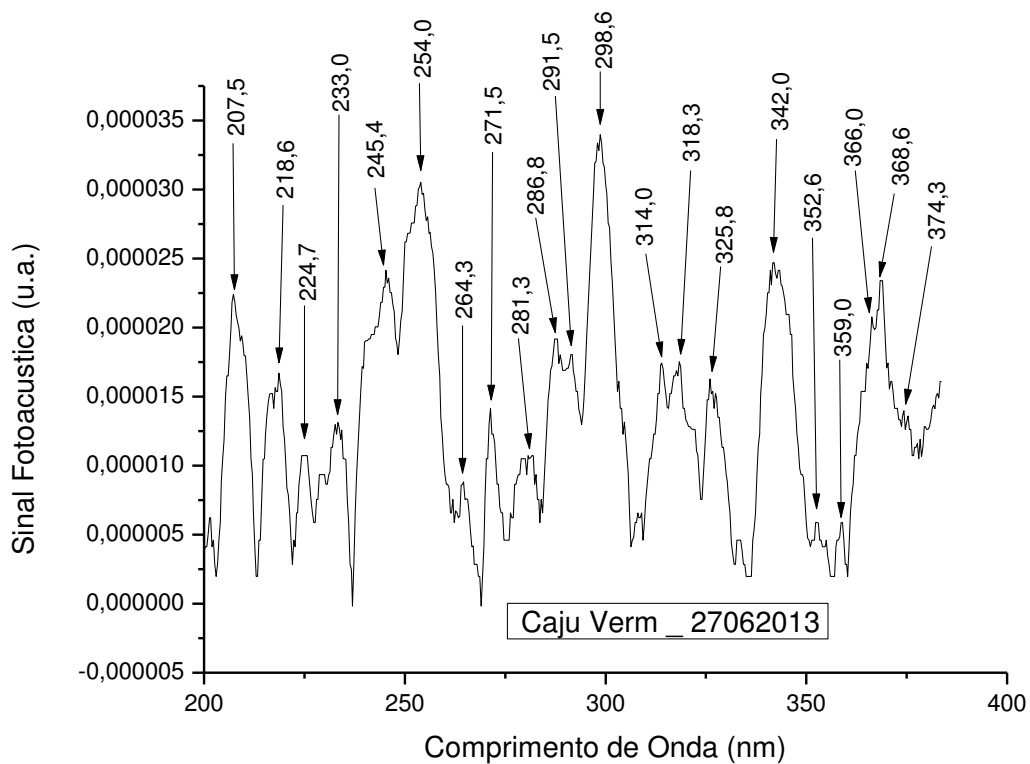


Figura 5.13 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Caju.

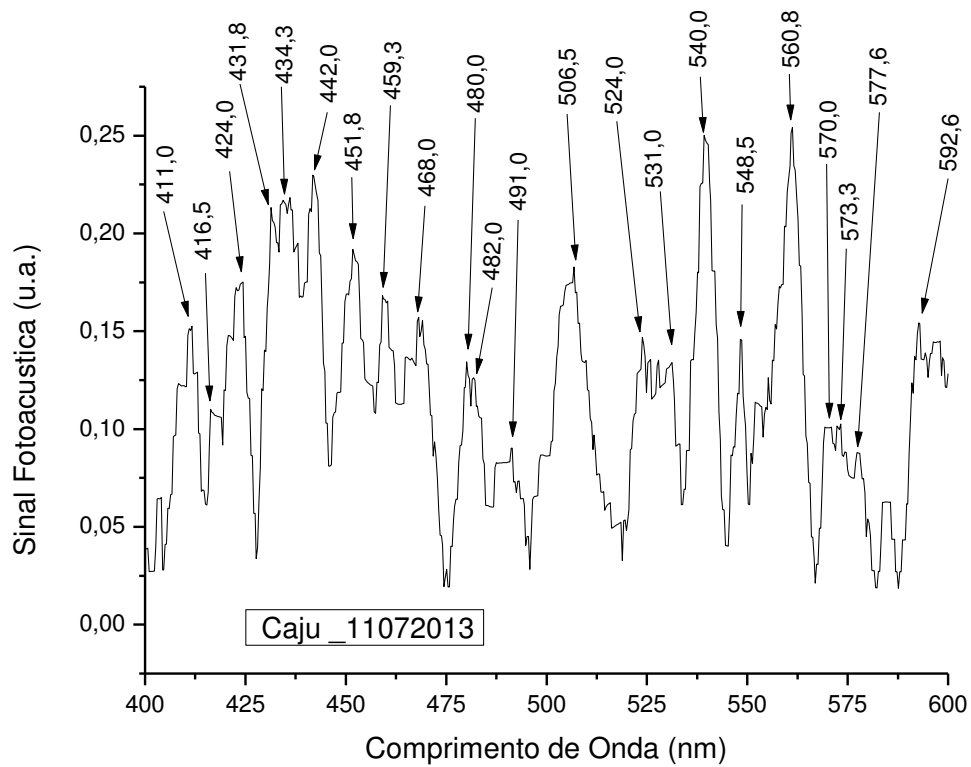


Figura 5.14 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm no Caju.

Encontra-se na Tabela 5.7 os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas no Caju.

Tabela 5.7 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Caju (*Anacardium Occidentale L.*)

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidin-3-gluc	267/280	313/325	495/505	279,3	314	506
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	279,3	325,8	515
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	279,3	314	524
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	281,3	307	527
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	271	332,6	540
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	279,3	314	547
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		233	279	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		227	279,3	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	254	342	469,3
2.4	Miricetina	256	354,4	372	256,5	353	374
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	256,5	269	359
2.6	Orientina	255	267	346	254	269	345
2.7	Homoorientina	255	271	350	254	271,5	353
2.8	Quercetina	256	300/312	374/384	256,5	299	274
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	218,6	254	353
2.10	Rutina	256	266	355/358	256,5	264,3	359
2.11	Isoquercetina	262	350		264,3	352,6	
2.12	Kaempferol	262	318	346/363	264,3	318,3	345
2.13	Kaempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	238,6	256,5	353
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		219,7	299,3	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		271	332,6
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		254	345	
2.17	Proantocianina	217/220	265-270	280	219,7	269	279,3
	<b>Taninos Condensados</b>						
2.18	Procianidinas	280	464	546	281,3	468	547,6
2.19	Retinol	205	330		207	332	
2.20	$\alpha$ - Tocoferol	205	280		207	279	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		238,6	271	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		239	271	
3.3	Ácido Clorogênico	240-248	300-318	320-326	242	318,3	325,8
3.4	Ácido Benzoico	247	367		245,4	368	
3.5	Ácido Ferúlico	248	323		249	325,3	
3.6	Ácido Elágico	253	367		254	366	
3.7	Ácido Ascórbico		265/267			264,3	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoxantina	416	438	468	416	436	468
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	414	434	468
4.3	Luteina	420	444/447	472	420	443	469
4.4	Zeaxantina	423	448	482	424	451	482
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	425	452	482

Como mostra esta Tabela 5.7, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas no Caju são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas no Caju, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS no Caju, (Figura 5.14), atribuídos às antocianinas indica que a delphinidina-3-gluc e a petunidina-3-gluc são as antocianinas preponderantes no Caju, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que apenas a cianidina-3-gluc esta nesta substância [52, 53].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, proantocianina, tanino condensado, retinol e  $\alpha$ -tocoferol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.13), atribuídos aos flavonóis indica que a orientina, a miricetina-3-gluc, o kaempferol-3-gluc, a quercetina, e a proantocianina, estão em ordem decrescente de concentração no Caju. Dados da literatura indicam que a miricetina-3-gluc, miricetina, quercetina-3-gluc, quercetina-3-O-xilo, quercetina-3-arab-pyranoside, kaempferol, apigenina e betacaroteno estão nesta substância [51, 52, 53].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, benzóico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para o Caju são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.13), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido gálico e o ácido clorogênico são os ácidos predominante no Caju, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que no Caju tem ácido gálico, ácido caféico e vitamina C [54, 55].

**Carotenóides:** A Tabela 5.7 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes no Caju, tem-se uma boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.15 e 5.16 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra do Caqui (*Diospyros Kaki*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 400 a 600 nm.

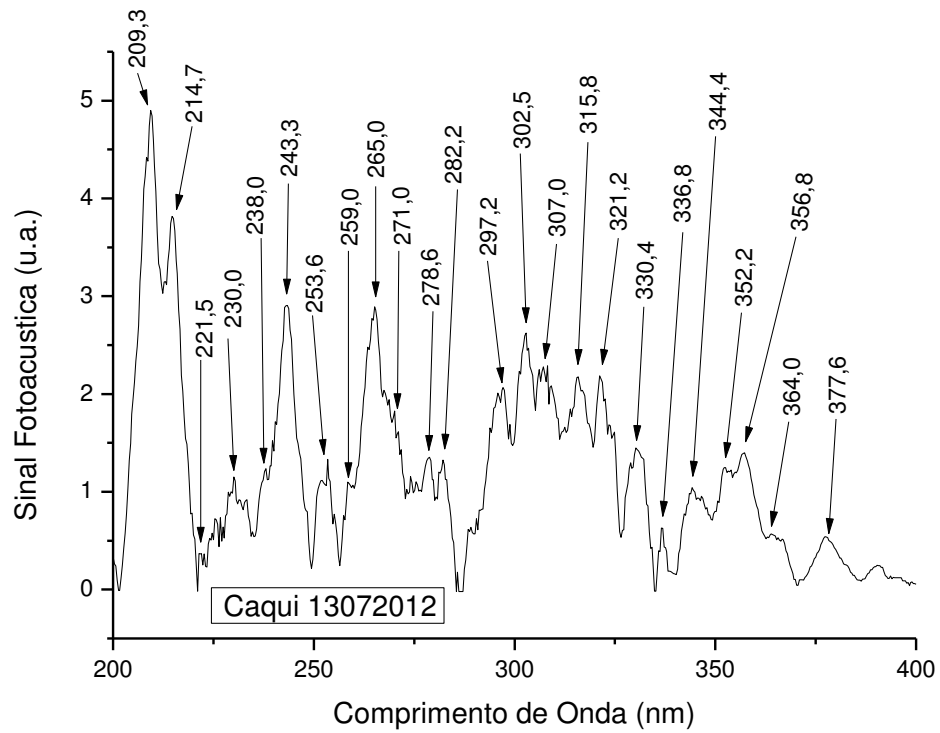


Figura 5.15 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Caqui.



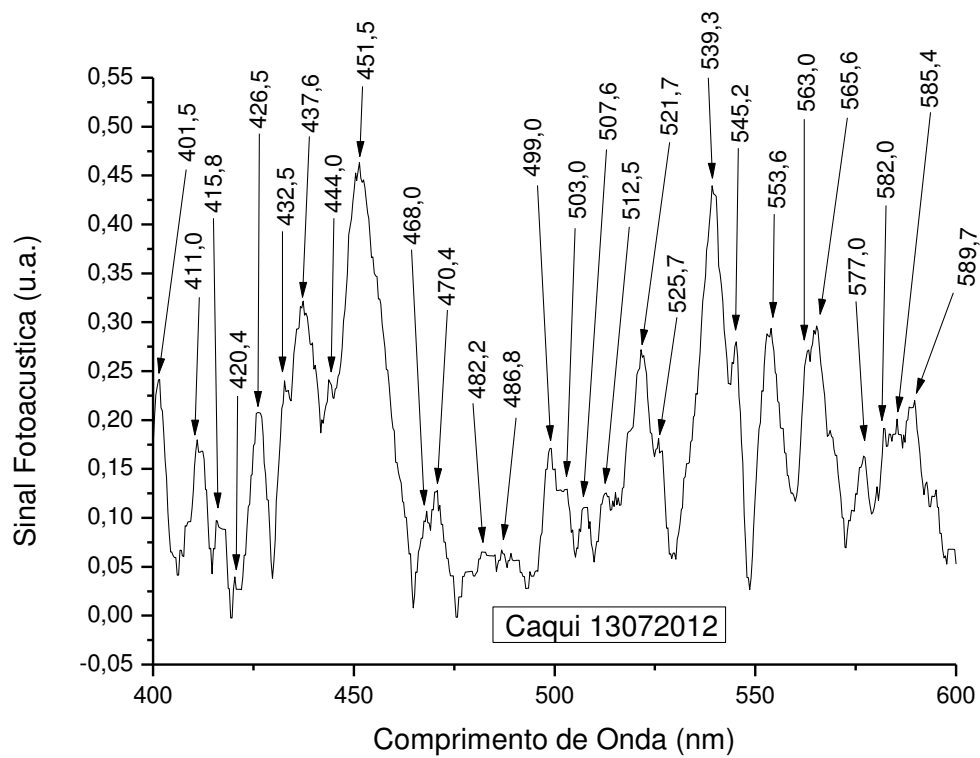


Figura 5.16 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm no Caqui.

Encontra-se na Tabela 5.8 os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificados no Caqui.

Tabela 5.8 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Caqui (*Diospyros Kaki*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	279	321	499
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	279	316	512
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	282	316	522
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	282	302,5	526
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	271	337	539
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	282	316	545
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		230	279	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		230	279	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	253,6	344	470,4
2.4	Miricetina	256	354,4	372	253,6	352,2	377,6
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	254	265	357
2.6	Orientina	255	267	346	254	265	344,4
2.7	Homoorientina	255	271	350	254	271	352
2.8	Quercetina	256	300/312	374/384	254	302,5	377,6
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	215	254	357
2.10	Rutina	256	266	355/358	259	265	357
2.11	Isoquercetina	262	350		259	352	
2.12	Kaempherol	262	318	346/363	265	316	364
2.13	Kaempherol-3-gluc	238	255/262	346/350	238	259	352
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		230	330,4	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		271	337
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		254	344,4	
2.17	Proantocianina	217/220	265/270	280	215	271	282
2.18	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	282	468	545
2.19	Retinol	205	330		209	330	
2.20	$\alpha$ - Tocoferol	205	280		209	282	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		238	271	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		238	271	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	243	302,5	321
3.4	Ácido Ferúlico	248	323		243,3	321,2	
3.5	Ácido Elágico	253	367		253,6	364	
3.6	Ácido Ascórbico		265/267			265	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoxantina	416	438	468	416	438	468
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	411	437	468
4.3	Luteína	420	444/447	472	420	444	471
4.4	Zeaxantina	423	448	482	420	451	482
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	426	452	482
4.6	Licopeno	443	472	502	444	471,6	503

Como mostra esta Tabela 5.8, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas no Caqui são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas no Caqui, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS do Caqui, (Figura 5.16), atribuídos às antocianinas indica que a delphinidina-3-gluc, a malvinidina-3-gluc e a peonidina-3-gluc são as antocianinas preponderante no Caqui, em ordem de concentração. Dados da literatura indicam que existem Antocianinas em baixa concentração [27, 56].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, proantocianina, tanino condensado, retinol,  $\alpha$ -tocoferol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.15), atribuídos aos flavonóis indica que o retinol,  $\alpha$ -tocoferol, a quercetina-3-gluc, a orientina, a miricetina-3-gluc, o kaempferol, a quercetina e a proantocianina são os flavonóis preponderantes no Caqui, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que a catequina, epicatequina, quercetina-3-gluc, kaempferol-3-gluc, miricetina, e o tanino condensado estão em alta concentração presente nesta substância [27].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para o Caqui são consistentes com os previstos na literatura para esta fruta obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.15), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido clorogênico, o ácido ferúlico e o ácido ascórbico são os ácidos predominante no Caqui, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que no Caqui tem ácido ascórbico, ácido gálico e ácido cumárico [27, 56].

**Carotenóides:** A Tabela 5.8 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes no Caqui, tem-se uma boa

concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.17 e 5.18 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra da Cebola Roxa (*Allium Cepa*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 400 a 600 nm.

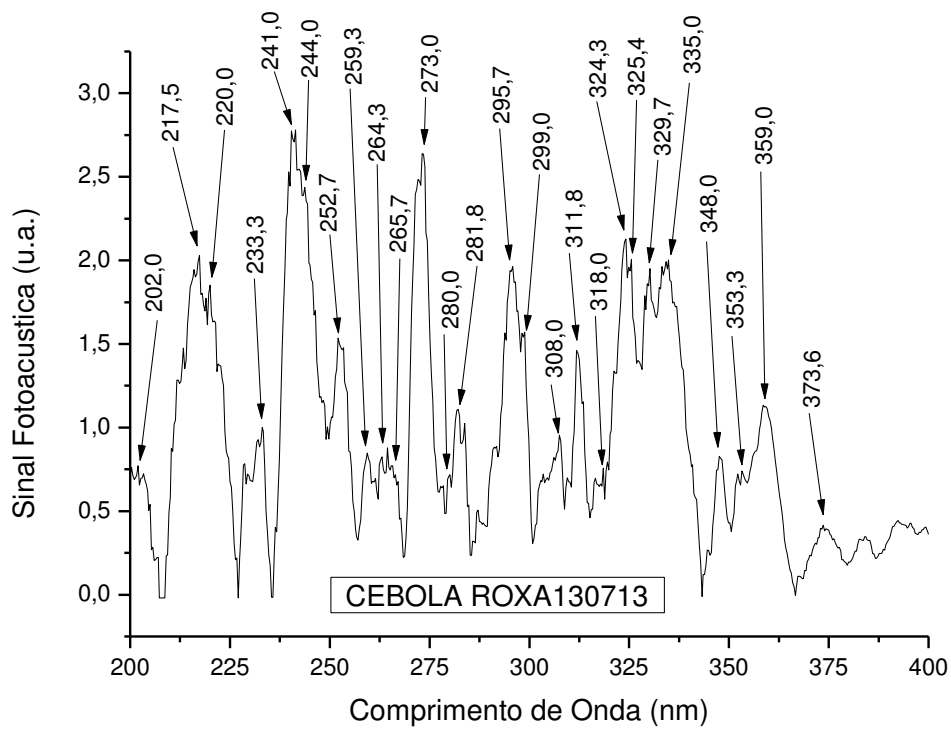


Figura 5.17 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Cebola Roxa.

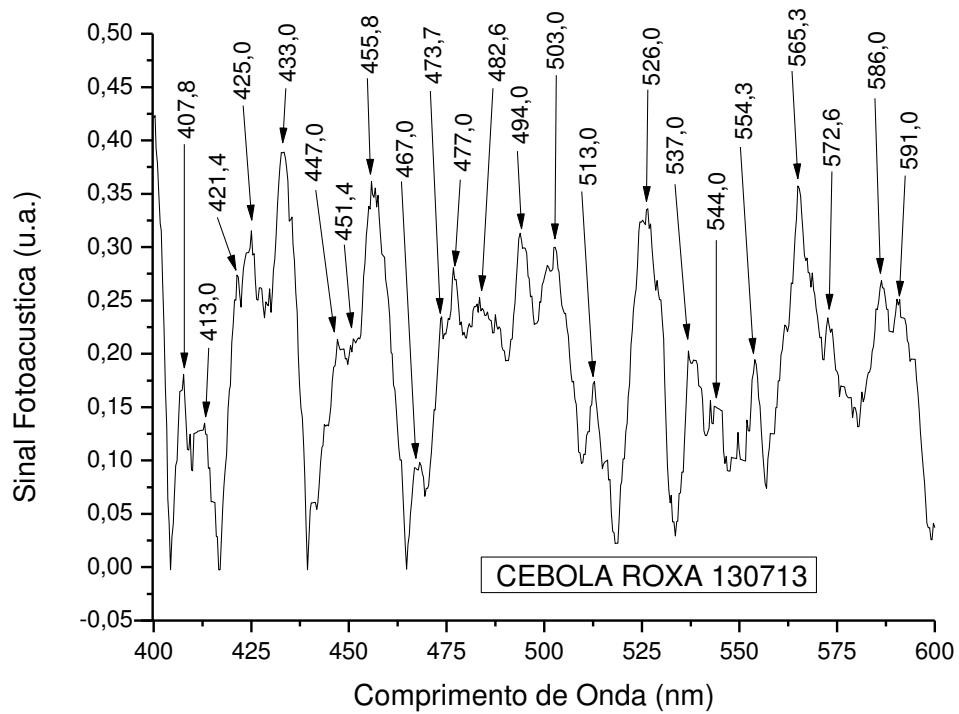


Figura 5.18 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Cebola Roxa.

Encontra-se na Tabela 5.9, os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas na Cebola Roxa.

Tabela 5.9 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Cebola Roxa (*Allium Cepa*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	280	325,4	503
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	280	312	513
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	280	312	526
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	280	308	526
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	273	335	537
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	280	312	544
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		233	280	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		233	273	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	252,7	335	473,7
2.4	Miricetina	256	354,4	372	253	353	374
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	259	266	359
2.6	Orientina	255	267	346	253	266	348
2.7	Homoorientina	255	271	350	253	273	348
2.8	Quercetina	256	300/312	374/384	253	312	374
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	217,5	253	353
2.10	Rutina	256	266	355/358	259	266	359
2.11	Isoquercetina	262	350		264	348	
2.12	Quempferol	262	318	346/363	264	318	348
2.13	Quempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	241	259	353
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		220	299	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		273	335
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		253	348	
2.17	Taxifolina/Deoxyhexose	295	340		296	335	
2.18	Proantocianina	217/220	265/270	280	217,5	266	280
2.19	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	280	467	544
2.20	Retinol	205	330		202	330	
2.21	$\alpha$ - Tocoferol	205	280		202	280	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		241	273	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		241	273	
3.3	Ácido Clorogênico	240-248	300-318	320-326	241	318	325,4
3.4	Ácido Ferúlico	248	323		244	324	
3.5	Ácido Elágico	253	367		253		
3.6	Ácido Ascórbico		265/267			265,7	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoaxantina	416	438	468	413	433	467
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	413	433	467
4.3	Luteina	420	444/447	472	421	447	474
4.4	Zeaxantina	423	448	482	425	447	483
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	425	451	483
4.6	Licopeno	443	472	502	447	474	503

Como mostra esta Tabela 5.9, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas na Cebola Roxa são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas na Cebola Roxa, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS da Cebola Roxa (Figura 5.18), atribuídos às antocianinas indica que a peonidina-3-gluc, a petunidina-3-gluc e a pelargonidina-3-gluc são as antocianinas preponderantes na Cebola Roxa, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que apenas a cianidina-3-gluc e a petunidina estão nesta substância [53].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianina, tanino condensado, retinol e  $\alpha$ -tocoferol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.17), atribuídos aos flavonóis indica que o kaempferol-3-gluc, a apigenina-3-gluc, (-)-epicatequina, homoorientina, proantocianina e o resveratrol são os flavonóis preponderantes na Cebola Roxa, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que a Cebola Roxa é rica em diferentes tipos de polifenóis, principalmente flavonóis dos quais a quercetina-3-gluc e a quercetina-7,4-digluc é a predominante nesta substância [57].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, ferúlico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para a Cebola Roxa são consistentes com os previstos na literatura para este legume obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.17), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido gálico, ácido clorogênico e o ácido ferúlico são os ácidos predominante na Cebola Roxa, em ordem decrescente de concentração. Não encontramos dados na literatura sobre ácidos fenólicos.

**Carotenóides:** A Tabela 5.9 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes na Cebola Roxa, tem-se

uma boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS na fruta “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.19 e 5.20 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra do Tomate (*Solanum Lycopersicum*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 350 a 750 nm.

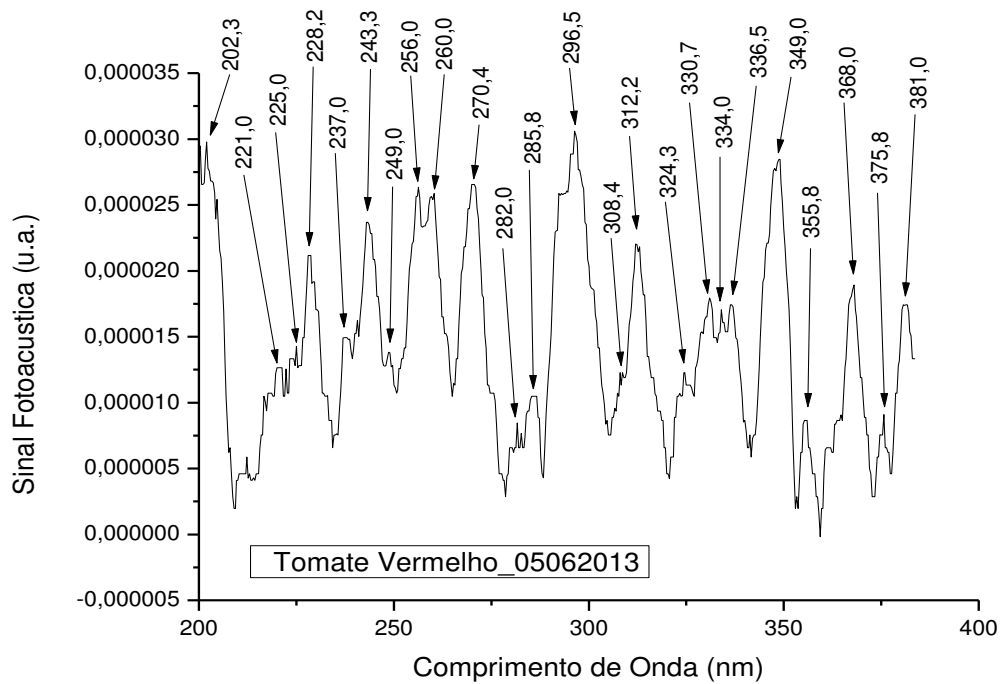


Figura 5.19 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm no Tomate.



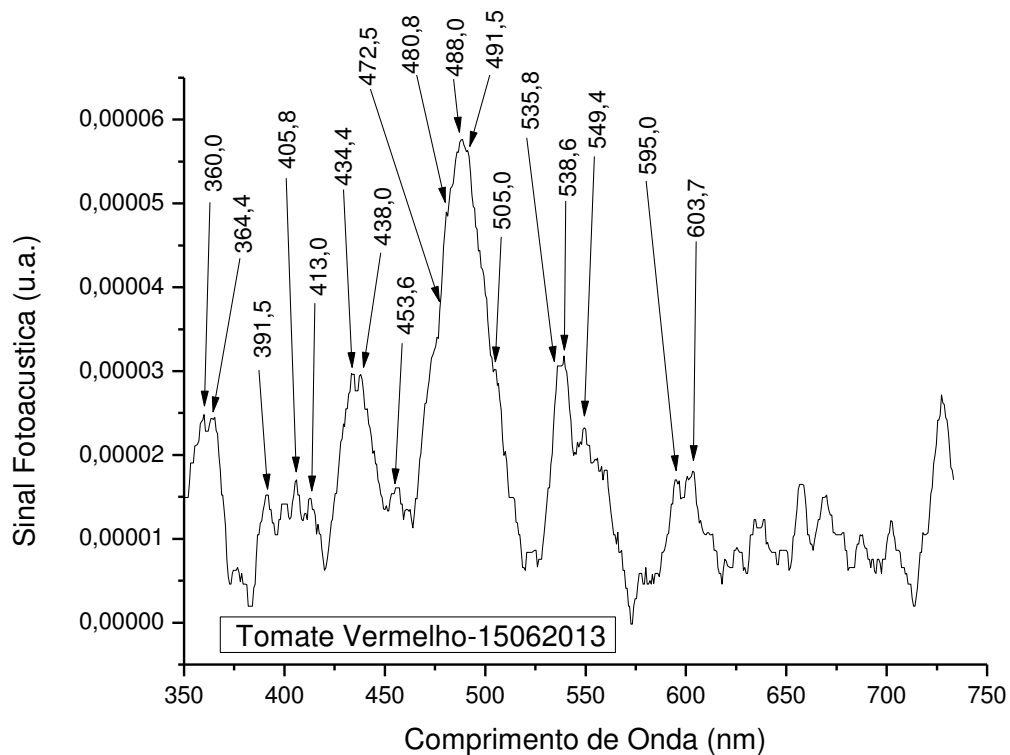


Figura 5.20 – Espectro fotoacústico no UV-visível de 350 a 750 nm no Tomate.

O tomate é certamente o vegetal mais popular e mais consumido em todo o mundo. Há bastantes evidências científicas que dietas ricas em tomates derrubem a incidências de várias doenças degenerativas, inclusive do câncer de próstata [29] e doenças cardiovasculares. Estas qualidades funcionais do tomate têm sido desde muito tempo atrás, atribuídas aos carotenóides, em primeiro lugar, com destaque para o licopeno e o  $\beta$ -caroteno, em segundo lugar, compostos fenólicos, como o ácido ascórbico e em menor escala, flavonol como a quercetina-0-rutinosídea (rutina) e à naringenina. Essas biomoléculas, como já frisado e incluindo o licopeno, são fortemente antioxidantes.

Em particular o licopeno com comprimento de onda máximo no visível esta em alta concentração, igual a 502 nm, é o responsável pela cor vermelha dos tomates maduros.

Em adição, o tomate é uma fonte potencial de outros bioativos como o tocoferol (vitamina E). Não é à toa que o tomate é componente essencial na famosa “Dieta do Mediterrâneo” juntamente com a uva, vinhos e outras frutas e vegetais ricos em Biomoléculas Funcionais.

Encontra-se na Tabela 5.10, os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas no Tomate Vermelho.

Tabela 5.10 – Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais no Tomate (*Solanum Lycopersicum*).

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	282	324	492
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	282	312	505
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	282	312	
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	282	308	536
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	237	336,5	539
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	282	312	549
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		228	282	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		228	270,4	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	249	336,5	
2.4	Miricetina	256	354,4	372	256	356	368
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	256	268	356
2.6	Orientina	255	267	346	256	268	349
2.7	Homoorientina	255	271	350	256	270,4	349
2.8	Quercetina	256	300/312	374/384	256	312	381
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	221	256	349
2.10	Rutina	256	266	355/358	256	268	356
2.11	Isoquercetina	262	350		260	349	
2.12	Quempferol	262	318	346/363	260	324	349
2.13	Quempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	237	260	349
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		221	308,4	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		270,4	336,5
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		256	349	
2.17	Taxifolina/Deoxyhexose	295	340		296,5	336,5	
2.18	Proantocianina	217/220	265/270	280	221	270,4	282
2.19	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	282		549
2.20	Retinol	205	330		202	331	
2.21	$\alpha$ -Tocoferol	205	280		202	282	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		237	270,4	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		237	270	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	249	308,4	324,3
3.4	Ácido Benzoico	247	367		249	368	
3.5	Ácido Ferúlico	248	323		249	324	
3.6	Ácido Elágico	253	367		256	368	
3.7	Ácido Ascórbico		265/267			267,8	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoxantina	416	438	468	413	438	472
4.2	Licopeno	443	472	502	444	472	505
4.3	Luteína	420	444/447	472	426	444	472
4.4	Zeaxantina	423	448	482	426	453	481
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	426	453	481

Como mostra esta Tabela 5.10, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas no Tomate são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delphinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. É importante salientar que todas as seis principais antocianinas glicosadas foram detectadas no Tomate, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional.

Uma análise visual das intensidades dos picos PAS do Tomate, (Figura 5.20), atribuídos às antocianinas indica que a pelargonidina-3-gluc e a delphinidina-3-gluc são as antocianinas preponderantes no Tomate, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que há somente traços de antocianinas no Tomate [58, 59].

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianina, retinol e  $\alpha$ -tocoferol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.19), atribuídos aos flavonóis indica que a taxifolina, o kaempferol, o kaempferol-3-gluc, a orientina, a isoquercetina, a homoorientina, quercetina-3-gluc e a luteolina são os flavonóis preponderantes no Tomate, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que o Tomate é rico em flavonóis dos quais se destacam a rutina, o kaempferol-3-O-rutin, a luteolina e a apigenina, que são predominantes nesta substância [58].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, vanílico, clorogênico, benzóico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para o Tomate são consistentes com os previstos na literatura para este legume obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.19), atribuídos aos ácidos fenólicos indica que o ácido gálico, ácido benzóico e o ácido elágico são os ácidos predominante no Tomate, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que no Tomate Vermelho encontra-se ácido clorogênico (preponderante), ácido cumárico, ácido gálico e ácido ferúlico [58].

**Carotenóides:** A Tabela 5.10 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes no Tomate dos quais  $\beta$ -caroteno, o licopeno é o predominante com 80 a 90% e os outros encontrados apenas traços,

tem-se uma boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS no legume “in natura” e os extraídos da literatura para os extracta correspondentes.

As Figuras 5.21 e 5.22 exibem os espectros fotoacústicos obtidos para a amostra da Cenoura (*Daucus Carota*), obtidos nos intervalos de 200 a 400 nm e de 400 a 600 nm.

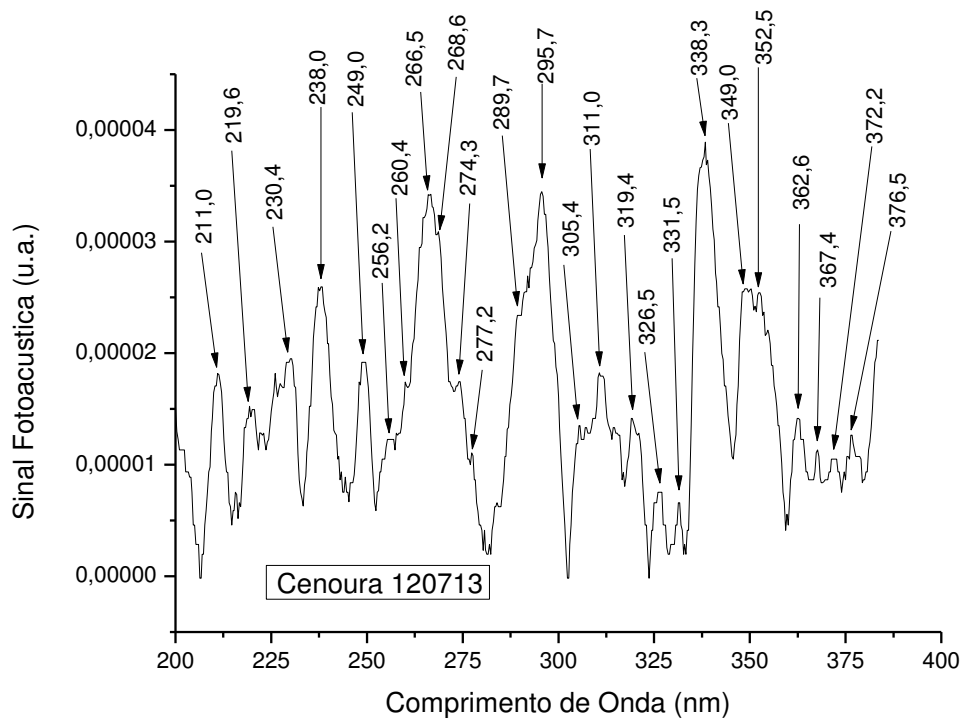


Figura 5.21 – Espectro fotoacústico no UV de 200 a 400 nm na Cenoura.

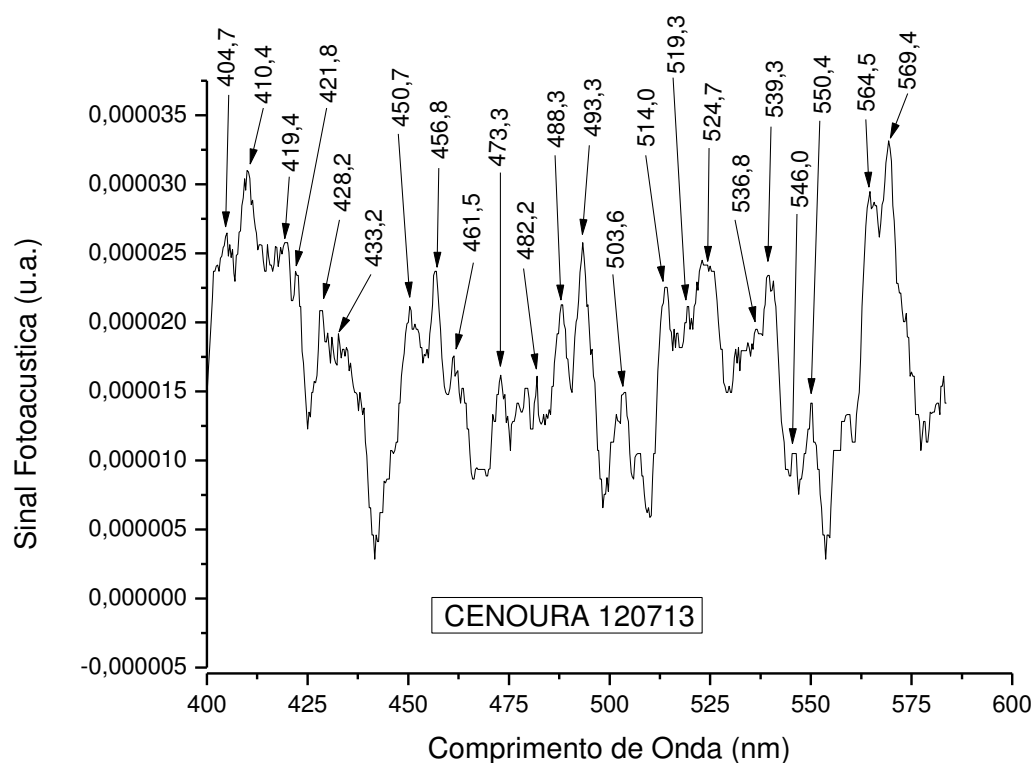


Figura 5. 22 – Espectro fotoacústico no visível de 400 a 600 nm na Cenoura.

A Cenoura é, juntamente com o tomate, o vegetal de consumo universal em larga escala. A Cenoura é rica em fitoquímicas tais como: os carotenóides com predominância para o  $\beta$ -caroteno, o licopeno, a luteína, e fenólicos como o  $\alpha$ -tocoferol [60].

Espécies mais alaranjadas da Cenoura exibem altas concentrações de Carotenóides, enquanto as de cor mais vermelho escuro, exibem alta concentração de poliacetilenos, fenólicos totais,  $\alpha$ -tocoferol e antocianinas [60].

Encontra-se na Tabela 5.11 os resultados obtidos para os valores de  $\lambda_{\max}$ , comprimentos de ondas dos diversos picos de absorção PAS e dos padrões utilizados na identificação das diversas Biomoléculas Funcionais identificadas na Cenoura.

Tabela 5.11– Dados de espectroscopia UV-Vis e fotoacústicas de Biomoléculas Funcionais na Cenoura (*Daucus Carota*)

	Moléculas	$\lambda_{\max}$ (nm) UV-Vis			$\lambda_{\max}$ (nm) PAS		
1	<b>Antocianinas</b>						
1.1	Pelargonidina-3-gluc	267/280	313/325	495/505	277	319,4	493
1.2	Cianidina-3-gluc	278/280	312/329	510/515	277	311	514
1.3	Peonidina-3-gluc	280	311	515/520	277	311	519
1.4	Petunidina-3-gluc	280	305	520/530	277	305	525
1.5	Delfinidina-3-gluc	235/271	277/336	530/540	238	338	539
1.6	Malvinidina-3-gluc	280	312	540/545	277	311	546
2	<b>Flavonóis</b>						
2.1	(+)-Catequina	230	278		230	277	
2.2	(-)-Epicatequina	229	276		230	277	
2.3	Piranocianidina B	252	340	472,5	249	338	473
2.4	Miricetina	256	354,4	372	256	352,5	376,5
2.5	Miricetina-3-gluc	258	267	358	260	266,5	362,6
2.6	Orientina	255	267	346	256	266,5	349
2.7	Homoorientina	255	271	350	256	274	349
2.8	Quercetina	256	300/312	374/384	256	311	376,5
2.9	Quercetina-3-gluc	216	254/273	350/363	219,6	274,3	362,6
2.10	Rutina	256	266	355/358	256,2	266,5	352,5
2.11	Isoquercetina	262	350		260,4	349	
2.12	Kaempferol	262	318	346/363	260,4	319,4	363
2.13	Kaempferol-3-gluc	238	255/262	346/350	238	256	349
2.14	Resveratrol	220/230	300/340		230,4	338,3	
2.15	Flavona Apigenina-3-gluc		271	336		274	338,3
2.16	Flavona/Luteolina	254	346		256	349	
2.17	Taxifolina/Deoxyhexose	295	340		296	338,3	
2.18	Proantocianina	217/220	265/270	280	219,6	268,6	277
2.19	Taninos Condensados Procianidinas	280	464	546	277	461,5	546
2.20	Retinol	205	330		211	331	
2.21	$\alpha$ -Tocoferol	205	280		211	280	
3	<b>Ácidos Fenólicos</b>						
3.1	Ácido Gálico	239	271		238	274,3	
3.2	Ácido Vanílico	238	270		238	274	
3.3	Ácido Clorogênico	240/248	300/318	320/326	249	319,4	326,5
3.4	Ácido Ferúlico	248	323		249	319,4	
3.5	Ácido Elágico	253	367		256	367,4	
3.6	Ácido Ascórbico		265/267			266,5	
4	<b>Carotenóides</b>						
4.1	Neoaxantina	416	438	468	419	433	462
4.2	Violaxantina	412/415	435	464	410	433	462
4.3	Luteína	420	444/447	472	422	451	473
4.4	Zeaxantina	423	448	482	422	451	482
4.5	$\beta$ -Caroteno	425	451	482	428	451	482
4.6	Licopeno	443	472	502	451	473	504

Como mostra esta Tabela 5.11, as seguintes Biomoléculas Funcionais do grupo dos Polifenóis e Carotenóides que foram identificadas na Cenoura são:

**Antocianinas:** pelargonidina-3-gluc, cianidina-3-gluc, peonidina-3-gluc, petunidina-3-gluc, delfinidina-3-gluc, malvinidina-3-gluc. Foram encontrados traços das seis principais antocianinas glicosadas na Cenoura, o que confirma o alto potencial desta especiaria como alimento funcional. Uma análise visual das intensidades dos picos PAS na Cenoura, (Figura 5.22), atribuídos às antocianinas indica que a pelargonidina-3-gluc, a petunidina e a cianidina são as antocianinas preponderantes na Cenoura, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que há somente traços de antocianinas na Cenoura.

**Flavonóis:** (+)-catequina, (-)-epicatequina, piranocianidina B, miricetina, miricetina-3-gluc, orientina, homoorientina, quercetina, quercetina-3-gluc, rutina, isoquercetina, kaempferol, kaempferol-3-gluc, resveratrol, apigenina-3-gluc, luteolina, taxifolina, proantocianina, tanino condensado, retinol,  $\alpha$ -tocoferol. As intensidades dos picos PAS (Figura 5.21), atribuídos aos flavonóis indica que a taxifolina, piranocianidina B e o resveratrol são os flavonóis preponderantes na Cenoura, em ordem decrescente de concentração. Dados da literatura indicam que na Cenoura o que predomina é o  $\alpha$ -tocoferol nos flavonóis [59, 60].

**Ácidos Fenólicos:** gálico, clorogênico, ferúlico, elágico e ascórbico. Nossos dados experimentais de PAS obtida para a Cenoura são consistentes com os previstos na literatura para este legume obtidos por outras técnicas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) acoplada com UV-Visível.

**Carotenóides:** A Tabela 5.11 que também apresenta os dados de espectroscopia UV-Visível convencional encontrado na literatura [27]. Para os dados de PAS os comprimentos de onda  $\lambda_{\max}$  das transições observadas para os carotenóides presentes na Cenoura dos quais o licopeno, o  $\beta$ -caroteno, e a violaxantina são predominantes, tem-se uma boa concordância entre nossos resultados obtidos por PAS no legume “in natura” e os extraídos na literatura para os extracta correspondentes.

A Tabela 5.12 mostra um resumo dos diversos tipos de Biomoléculas Funcionais identificadas nos sistemas aqui investigados.



Tabela 5.12 – Materiais investigados onde foram identificadas biomoléculas de carotenóides e de flavonóides, usando a técnica de PAS.

<b>Vegetais</b>	<b>Moléculas</b>
Açaí	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Cupuaçu	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Castanha do Brasil	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Maçã Vermelha	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Uva Preta	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Uva Roxa	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Uva Globe	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Acerola	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Caju	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Caqui	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Cebola Roxa	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Tomate	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.
Cenoura	Antocianinas, Carotenóides, Flavonóis e Ácidos Fenólicos.

Como pode ser visto antocianinas, flavonóis, ácidos fenólicos e carotenóides, todas estão presentes nas frutas e vegetais investigados, porém em concentrações relativas variadas, indo de concentrações relativamente altas até próximas de zero (traços). Claramente foi observado que, enquanto as antocianinas ocorrem no Açaí, Castanha do Brasil, Uva e Acerola em concentrações altas ou intermediárias, os carotenóides aparecem em traços, ou seja, concentrações irrelevantes. Ao contrário, os carotenóides foram encontrados com concentrações altas e intermediárias no Cupuaçu, Cenoura, Caju e Caqui, enquanto as moléculas flavonóides foram encontradas em baixas concentrações ou apenas traços nestas espécies.

## 6. Conclusões e Perspectivas

Testou-se a viabilidade do uso da técnica de Espectroscopia Fotoacústica na investigação das propriedades físicas de Moléculas Bioativas e Funcionais, em frutas, verduras e vegetais. Teve-se considerável sucesso, pois a técnica fotoacústica tem se mostrado muito útil e versátil na identificação de Biomoléculas Funcionais tanto do grupo dos polifenóis como nos carotenóides.

Quanto a identificação dos possíveis tipos de Biomoléculas Funcionais presentes nas frutas, verduras e vegetais, as principais moléculas do grupo dos polifenóis observadas neste trabalho foram as seguintes: antocianinas, quercetina, resveratrol, kaempferol, além de moléculas de ácidos fenólicos tais como os ácidos ascórbico (vitamina C), gálico, clorogênico, ferúlico, elágico e benzóico, todos presentes em maior ou menor intensidade nas frutas, verduras e vegetais investigados. Também identificou-se o grupo dos carotenóides,  $\beta$ -caroteno, licopeno, violaxantina, zeaxantina, luteína, neoaxantina, dentre outras.

A seguinte série de sistemas biológicos “in natura”: Açaí, Cupuaçu, Castanha do Brasil, Uva Roxa, Uva Preta, Acerola, Caju, Caqui, Maçã Vermelha, Cebola Roxa, Cenoura e Tomate, observou-se que, enquanto as antocianinas ocorrem no Açaí, Castanha do Brasil, Uva e Acerola em concentrações altas ou intermediárias, os carotenóides aparecem em traços, ou seja, concentrações irrelevantes. Ao contrário, os carotenóides foram encontrados em concentrações altas e intermediárias no Cupuaçu, Cenoura, Caju e Caqui, enquanto as moléculas flavonóides foram encontradas em baixas concentrações ou apenas traços nestas espécies.

Os resultados permite classificar as espécies investigadas em duas famílias distintas quanto à concentração de biomoléculas: a primeira, tendo à frente o Açaí, caracteriza-se por exibir alta ou intermediária concentração de antocianinas. São elas, além do Açaí, a Castanha do Brasil, a Uva, o Caqui e a Acerola, são as espécies “roxas”. Ao mesmo tempo, essas espécies exibem baixas concentrações, ou até mesmo traços, de biomoléculas dos carotenóides. Quanto aos flavonóis e ácidos fenólicos, esta família apresenta concentrações intermediárias. A segunda família exibe comportamento contrário: alta ou intermediária concentração de carotenóides e baixas concentrações, ou até mesmo traços de antocianinas. São eles o Cupuaçu, a Maçã, o Caju e a Cenoura, são as espécies amarelas ou alaranjadas. Uma exceção é o Tomate Vermelho que exibe esta cor devido à presença em altas concentrações de um carotenóide, o licopeno.

Como perspectivas futuras indica-se a investigação da ampla gama de Biomoléculas Funcionais, tanto do grupo dos polifenóis como dos carotenóides, ambos presentes na vasta variedade de frutas, verduras e vegetais, principalmente das regiões tropicais brasileiras.

Também sugere-se que seja desenvolvido um método de análise quantitativa, em que as concentrações das diversas biomoléculas constituintes dos materiais biológicos funcionais possam ser determinadas. Dessa forma a técnica de Espectroscopia Fotoacústica poderá se firmar como uma ferramenta poderosa de investigação experimental no campo dos materiais biológicos “in natura”, em que a utilização da técnica de Espectroscopia Ótica Convencional é reconhecidamente inviável.

## Referências

1. PIETTA, P.; MINOGGIO, M.; BRAMATI, L. Studies in Natural Products Chemistry, **Elsevier Science B.**, 28, 2003.
2. ESCARPA, A.; GONZALES, M.C. An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic Compounds in Foods. **Crit. Rev. In Anal. Chemistry**, 31:57, 2001.
3. HARBORNE, J.B., In The Flavonoids: Advances in research since 1986, **Chapman & Hall: London**, 1994.
4. HERTOOG, M.G.L.; HOLLMANN, P.C.H.; van de PUTTE, B.; Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices, **J. Agric. Food Chem.**, 41, 1993. 1242-1246.
5. JUSTESEN, U.; KANUTHSEN, P.; LETH, T.; Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection, **J. Chromatogr. A**, 799, 1998, 101-110.
6. FOSSEN, T.; PEDERSEN, A. T.; ANDERSEN, O.T.; Flavonoids from red onion (*Allium cepa*), **Phytochemistry**, 47, 1998, 281-285.
7. PRICE, K. R.; COLQUHOUN, I. J.; BARNES, K. A.; RHODES, M. C.; Composition and Content of Flavonol Glycosides in Green Beans and Their Fate during Processing, **J. Agric. Food Chem.** 46, 1998. 4898-4903.
8. PRICE, K, R.; RHODES, M. J. C.; BARNES, K. A.; Flavonol Glycoside Content and Composition of Tea Infusions Made from Commercially Available Teas and Tea Products, **J. Agric. Food Chem.** 46, 1998. 2517-2522.
9. ATUOI, A. K., MANSOURI, A., BOSKOV,G., KEFALAI, P., Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile , **Food Chemistry**, 89, 2005, 27-36.
10. ZSILA, F.; BIKÁDI, Z.; SIMONYI, M. Probing the binding of the flavonoid, quercetin to human serum albumin by circular dichroism, electronic absorption spectroscopy and molecular modelling methods, **Biochemical Pharmacology**, 65, 2003. 447-456.

11. AOUN, M. et al, A grape polyphenol extract modulates muscle membrane fatty acid composition and lipid metabolism in high-fat–high-sucrose diet-fed rats, **British Journal of Nutrition**, 106, 2011. 491-501.
12. PATEL, J. M. A review of Potencial health benefits of flavonoides. **Lethbridge Undergraduate Research Journal**, 2008.
13. BRASYO, P. et al, Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients, **British Journal of Nutrition**, 106, 2011. 383-389.
14. CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al; Chemical Studies of anthocyanines: a review, **Food Chemistry**, 113, 2009. 859-871.
15. IGNAT, I.; VOLF, I; POPA, V. I.; A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, **Food Chemistry**, 126, 2011, 1835-18.
16. BRIDLE, P; TIMBERLACE, C. F., Anthocyanins as natural food colours—selected aspects, **Food Chemistry**, 58, 1997. 103-109.
17. GROTEWOLD, E.; *The Science of Flavonoids*, **Springer**, 2006, 257-267.
18. ROBARDS, K., Determination of reactive phenolics in plants, fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, 2, 2003, 657-661.
19. Dr. RENAUDE, S, Dr. LORGERIL, M. “O paradox français”, **British Medical Journal**, 1991.
20. IACOPINI, P., BELDI, M., STORCHI, P.; SEBASTIANI, L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions, **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, 2008. 589-598.
21. TANAKA, T. et al. Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolics caffeic, ellagic, chlorogenic and ferulic acids, **Carcinogenesis**, 14, 1993. 1321-1325.
22. WANG, H.; CAIO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins, **Journal Agric. Food Chemistry**, 45, 1997, 304-309.

23. WANG, H.; et al. Antioxidant and Antiinflammatory Activities of Anthocyanins and Their Aglycon, Cyanidin, from Tart Cherries, **Journal Natural Products**, 62, 1999, 294-296.
24. SHARRER, A.; OBER, M. Anthocyanoside in der Behandlung von Retinopathien. **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**, 178, 1981, 386-389.
25. POLITZER, M. Experience in medical treatment of progressive myopia. **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**, 171, 1977, 616-619.
26. CUKOVA, M, et al. Protetor Soler Antirediction properties tocophenol anthocyan. **Acta Physiol. Pharmacol. Bull.** 1990, 357-361.
27. LIN, X. et al, Isolation and Tyrosinase Inhibitory Effects of Polyphenols from the Leaves of Persimmon, Diospyros kaki, **Jounal Agric Food Chemistry**, 59, 2011, 6011-6017.
28. ATKINS, P. W.; PAULA, J.; **Physical Chemistry**, 7. Ed., Oxford University Press inc, New York, 1998.
29. SUASSUNA, J. F., **Física e Espectroscopia Molecular UV-visível**. Textos didáticos. UAF – UFCG, 2010.
30. SANNIGRAHI, A. B.; KAR, T. Molecular Orbital Teory (MOT) of bond order and valency. **Journal Chemistry Educ.**, 65, 1988, 674-679.
31. GALLUP, G. A. The lewis electron – pair model. **J. Chemistry Educ.**, 65, 1988, 671-673.
32. MAGI-FELSOBUKI, E. I.; HUCKEL Theory and Photoelectron Spectroscopy, **Journal Chemistry Educ.**, 66, 1989, 821-824.
33. ATKINS, P. W.; FRIEDMAN, R. S.; **Molecular Quantum Mechanics**, Oxford University Press, New York, 1997.
34. ROSENCWAIG, A.; GERSHO, A.; Theory of the Photoacoustic effect with Solids, **J. App Phys**, 47, 1976, 64-69.
35. ROSENCWAIG, A. Photoacoustics Spectroscopy, A new tool for investigation of solids, **Analytical Chemistry**, 47, 1975, 592-595.
36. COSTA, R. C., Difusividade Térmica e Cristalinidade do Polímero PET, medidas por Espectroscopia Fotoacústica e DSC, **Dissertação de Mestrado**, UFPB, 2008.

37. LIMA, R. J. S., Investigação de Sistemas Minerais Usando as Técnicas de UV-Visível, Fotoacústica e Ressonância Paramagnética Eletrônica, **Dissertação de Mestrado**, UFPB, 2008.
38. Bell, A. G., On the production and reproduction of sound by light, **American Journal of Science**, 20, 1880, 305-324.
39. KENNEDY, L. A., Aplicação da Espectroscopia Fotoacústica na Identificação das Cores do Algodão Naturalmente Colorido, **Dissertação de Mestrado**, UAF–UFCG, 2011.
40. SUASSUNA, J. F., **Introdução a Espectroscopia Fotoacústica e Aplicações**. Textos didáticos. UAF–UFCG, 2010.
41. LISBERTH, A. et al, Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, 105, 2007, 28-35.
42. Gallori S. et al, Polyphenolic constituents of fruit of *Euterpe oleracea* Mart. (açai palm), **Chromatographia**, 59, 2004, 739-743.
43. PUGLIESE, A. G., Compostos fenólicos do Cupuaçú, **Dissertação de Mestrado**, USP, São Paulo, 2010.
44. PEREIRA, J. A. et al., Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars, **Food and Chemical Toxicology**, 46, 2008, 2103-2111.
45. YANG, J.; Brazil nuts and associated health benefits: A review, **Food Science and Technology**, 42, 2009, 1573-1580.
46. AWARD M. A.; JADER A. WARTING L. M.; Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation **Scientia Horticulturac**, 83, 2000, 249-263.
47. IACOPINI, P. et al.; Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions, **Journal of Food Composition Analysis**, 21, 2008, 589-598.
48. REVILLA, I. et. al.; Identification of anthocyanin derivatives in grape skin extracts and red wines by liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection, **Journal of Chromatography A**, 83,1999, 847.

49. PRADO, A.; Composição Fenólica e Atividade Antioxidante de Frutas Tropicais, **Dissertação de Mestrado**. USP, São Paulo, 2009.
50. HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H.; Structural and Functional Characterization of Polyphenols Isolated from Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Fruit, **Biosci Biotechn Biochem**, 65, 2005, 280-286.
51. HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; Flavonóis e Flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos, **Alim. Nutri.**, Araraquara, 19, 2008, 97-108.
52. BRITO, E. S. et al., Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS, **Food Chemistry**, 105, 2007, 1112-1118.
53. LOPES, M. M. A. et al.; Bioactives Componds of Cashew Apples (*anacardium occidentale*. L.), **Food Science and Technology**, 36, 2012, 3-9.
54. ABREU, F. P. et. Al., Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) extract from by-product of juice processing: A focus on carotenoids, **Food Chemistry**, 138, 2013. 25-31.
55. ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z.; Carotenoids and ascorbic acid composition from commercial products of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.), **Journal of Food Composition and analysis**, 16, 2003, 647-657.
56. DOLW, L.T.; **Dissertação de Mestrado**, UNB, Faculdade de Ciências da Saúde, 2008.
57. GREGÓRIO, R. M. P. et al.; Identification and quantification of flavonoids in traditional cultivars of red and white onions at harvest, **Journal of Food Composition and Analysis**, 23, 2010, 592-598.
58. GAMA, J. J. T.; **Tese de Doutorado**, Departamento de Alimentos e Nutrição, Araraquara, 2008.
59. LIMA, R.J. S.; VASCONCELOS, A.S.; SUASSUNA, J.F.; Carotenoids and flavonoids identification in Brazilian tropical fruits and vegetables using photoacoustic technique, **J. Phys. IV France**, 125, 2005, 51-53.



60. MATZGER, B., BARNES, D. M.; Polyacetylene Diversity and Bioactivity in Orange Market and Locally Grown Colored Carrots (*Daucus carota* L.), **Jounal Agric Food Chemistry**, 57, 2009, 11134-11139.