

**PRISCILA PEREIRA DE SOUZA**

**CAPACIDADE DE SOLUÇÕES ENVOLVENDO ÁCIDOS ORGÂNICOS NA  
EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS PRESENTES NAS CASCAS DA JABUTICABA  
(*MYRCIARIA CAULIFLORA*) E NAS FOLHAS DO REPOLHO ROXO (*BRASSICA  
OLERACEA*)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade do  
Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial  
para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos.

Orientador: Alessandro Cazonatto Galvão

**Pinhalzinho, SC  
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CEO/UEDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Souza, Priscila Pereira de  
CAPACIDADE DE SOLUÇÕES ENVOLVENDO ÁCIDOS  
ORGÂNICOS NA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS  
PRESENTES NAS CASCAS DA JABUTICABA (MYRCIARIA  
CAULIFLORA) E NAS FOLHAS DO REPOLHO ROXO  
(BRASSICA OLERACEA) / Priscila Pereira de Souza. -- 2019.  
78 p.

Orientador: Alessandro Cazonatto Galvão  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Chapecó,  
2019.

1. Extração. 2. Antocianinas. 3. Jabuticaba. 4. Repolho roxo. 5.  
Ácidos orgânicos. I. Galvão, Alessandro Cazonatto . II.  
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação  
Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos. III. Título.

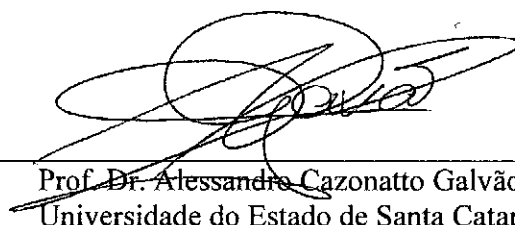
**PRISCILA PEREIRA DE SOUZA**

**CAPACIDADE DE SOLUÇÕES ENVOLVENDO ÁCIDOS ORGÂNICOS NA  
EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS PRESENTES NAS CASCAS DA JABUTICABA  
(*MYRCIARIA CAULIFLORA*) E NAS FOLHAS DO REPOLHO ROXO (*BRASSICA  
OLERACEA*)**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade do Estado de Santa Catarina.

**Banca Examinadora**

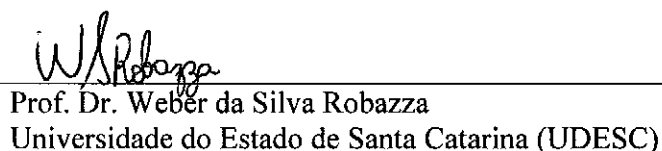
Orientador:



---

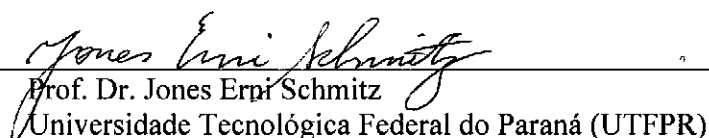
Prof. Dr. Alessandro Cazonatto Galvão  
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

**Membros**



---

Prof. Dr. Weber da Silva Robazza  
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)



---

Prof. Dr. Jones Erpi Schmitz  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

**PINHALZINHO, 01 de Março de 2019**



Dedico este trabalho aos meus pais, José Iran e Magna e ao meu irmão Vinícius.



## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta caminhada;

Ao meu professor orientador Dr. Alessandro Cazonatto Galvão pela orientação, dedicação, paciência e amizade sendo muito importante para minha trajetória;

Aos meus pais, que não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Hoje sou uma pessoa realizada e feliz porque não estive só nesta longa caminhada. Vocês foram meu apoio.

Ao meu namorado Rodrigo, pelo incentivo, por estar ao meu lado e ter enfrentado comigo os obstáculos;

A todos os meus amigos e familiares que com muito carinho me apoiaram e acreditaram em mim.

A toda a equipe do laboratório ApTher - Termofísica Aplicada, principalmente as acadêmicas de iniciação científica Bruna e Layze que estiveram presentes auxiliando-me com os experimentos;

As minhas companheiras Patrícia, Gabriella, Fabiele e Karine pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas. Com vocês, as pausas entre um parágrafo e outro com palavras de conforto e esperança fizeram com que eu continuasse e chegasse até aqui.

A Universidade do Estado de Santa Catarina por ter me recebido de braços abertos e com todas as condições que me proporcionaram dias de aprendizagem muito ricos;

Ao Estado de Santa Catarina pela bolsa de estudos e auxílio financeiro no último semestre, através do programa UNIEDU.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho, minha imensa gratidão e amor!





“Quando tudo parecer dar errado em sua vida, lembre-se que o avião decola contra o vento, e não a favor dele”.  
**(Henry Ford)**



## RESUMO

Este trabalho tem por objetivo avaliar a capacidade de diferentes combinações de soluções hidroalcoólicas associadas a ácidos orgânicos na extração de antocianinas presentes nas cascas da jabuticaba e nas folhas do repolho roxo. Para tal fim, avaliou-se diferentes frações molares de três soluções líquidas binárias formadas por (água + metanol), (água + etanol) e (água + isopropanol) com adição de diferentes quantidades de três ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido adípico e ácido nicotínico). Após o procedimento de extração, as antocianinas monoméricas totais foram quantificadas por método espectrofotométrico. Com tal procedimento, foi possível determinar uma combinação de solvente/ácido orgânico que permitiu maximizar os processos extrativos de antocianinas monoméricas presentes nas matrizes estudadas. A utilização de ácidos orgânicos como coadjuvantes na extração de antocianinas provou ser eficiente. A solução que apresentou melhor capacidade para extrair antocianinas das cascas da jabuticaba foi água + metanol com  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido cítrico. Para as folhas do repolho roxo a solução formada por água + metanol e  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico se mostrou mais eficiente.

**Palavras-chave:** Ácidos orgânicos. Extração. Antocianinas. Jabuticaba. Repolho roxo.



## ABSTRACT

This work aims to evaluate the ability of different combinations of hydroalcoholic solutions associated with organic acids in the extraction of anthocyanins present in the peels of jabuticaba and in the leaves of purple cabbage. For this purpose, different molar fractions of three binary liquid solutions (water + methanol), (water + ethanol) and (water + isopropanol) were added with different amounts of three organic acids (citric acid, adipic acid and nicotinic acid). After the extraction procedure, the total monomeric anthocyanins were quantified by spectrophotometric method. With this procedure, it was possible to determine a solvent / organic acid combination that allowed to maximize the extractive processes of monomeric anthocyanins present in the matrices studied. The use of organic acids as coadjuvants in the extraction of anthocyanins proved to be efficient. The solution that had the best ability to extract anthocyanins from the peels of jabuticaba was water + methanol with  $0.1 \text{ mol.kg}^{-1}$  of citric acid. For the leaves of the purple cabbage the solution formed by water + methanol and  $0.1 \text{ mol.kg}^{-1}$  of adipic acid was more efficient.

**Keywords:** Organic acids. Extraction. Anthocyanins. Jabuticaba. Purple cabbage.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do cátion flavílico.....	31
Figura 2 - Estruturas moleculares encontradas em solução aquosa com diferentes valores de pH. Cátion flavilium (AH <sup>+</sup> ) A) Base quinoidal; B) Carbinol ou pseudobase e C) Chalcona .....	33
Figura 3 - Fluxograma com combinações e concentrações de solventes com ácidos orgânicos .....	42
Figura 4 - Células encamisadas .....	43
Figura 5 - Filtração com bomba à vácuo .....	43
Figura 6 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jaboticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias .....	47
Figura 7 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jaboticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido cítrico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol·kg <sup>-1</sup> .....	49
Figura 8 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jaboticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido adípico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol·kg <sup>-1</sup> .....	51
Figura 9 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jaboticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido nicotínico nas concentrações de 0,01, 0,03 e 0,06 mol·kg <sup>-1</sup> .....	53
Figura 10 - Espectros de varredura da absorvância de antocianinas extraídas das cascas da jaboticaba, na presença de ácidos orgânicos.....	54
Figura 11 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias.....	57
Figura 12 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido cítrico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol·kg <sup>-1</sup> .....	58
Figura 13 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido adípico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol·kg <sup>-1</sup> .....	60
Figura 14 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido nicotínico nas concentrações de 0,01, 0,03 e 0,06 mol·kg <sup>-1</sup> .....	61
Figura 15 - Espectros de varredura da absorvância de antocianinas extraídas do repolho roxo, na presença de ácidos orgânicos .....	63
Figura 16 - Concentração de TMA extraídas com componentes puros e com soluções líquidas binárias, extraídas das cascas da jaboticaba e do repolho roxo .....	65





## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Antocianinas encontradas em frutas.....	32
Tabela 2 - Propriedades dos solventes.....	35
Tabela 3 - Fonte e pureza dos reagentes utilizados .....	40



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

<b><i>TMA</i></b>	Antocianina monomérica total
<b><math>\delta</math></b>	Incerteza experimental
<b><i>MW</i></b>	Massa molar
<b><i>DF</i></b>	Fator de diluição
<b><math>\epsilon</math></b>	Coeficiente de extinção molar
<b><i>ABS</i></b>	Absorbância
<b>ss</b>	Sólidos secos



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
<b>3</b>	<b>REFERÊNCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>29</b>
3.1	MATÉRIAS PRIMAS .....	29
<b>3.1.1</b>	<b>Jabuticaba (<i>Myrciaria cauliflora</i>) .....</b>	<b>29</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Repolho Roxo (<i>Brassica oleracea</i>) .....</b>	<b>30</b>
3.2	ANTOCIANINAS .....	30
3.3	SOLVENTES .....	34
3.4	ÁCIDOS ORGÂNICOS .....	36
3.5	MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO .....	37
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
4.1	MATERIAIS.....	39
<b>4.1.1</b>	<b>Vidrarias.....</b>	<b>39</b>
4.1.1.1	<i>Outros Materiais.....</i>	39
<b>4.1.2</b>	<b>Reagentes .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Equipamentos.....</b>	<b>40</b>
4.2	MÉTODOS .....	41
<b>4.2.1</b>	<b>Material Vegetal.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Preparo das soluções líquidas binárias combinadas com os ácidos orgânicos.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Extração.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Determinação da quantidade total de antocianinas monoméricas (<i>TMA</i>) .....</b>	<b>43</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Determinação das incertezas .....</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>47</b>
5.1	JABUTICABA .....	47
<b>5.1.1</b>	<b>Componentes Puros e soluções líquidas binárias.....</b>	<b>47</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Ácido cítrico .....</b>	<b>49</b>
<b>5.1.3</b>	<b>Ácido adípico.....</b>	<b>50</b>
<b>5.1.4</b>	<b>Ácido nicotínico.....</b>	<b>52</b>
<b>5.1.5</b>	<b>Espectros de varredura da absorbância de antocianinas da jabuticaba .....</b>	<b>53</b>
5.2	REPOLHO ROXO.....	56
<b>5.2.1</b>	<b>Componentes Puros e soluções líquidas binárias.....</b>	<b>56</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Ácido cítrico .....</b>	<b>57</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Ácido adípico.....</b>	<b>59</b>
<b>5.2.4</b>	<b>Ácido nicotínico.....</b>	<b>61</b>
<b>5.2.5</b>	<b>Espectros de varredura da absorbância de antocianinas do repolho roxo .....</b>	<b>62</b>

5.3	JABUTICABA X REPOLHO ROXO .....	64
6	CONCLUSÃO .....	67
	REFERÊNCIAS .....	68
	APÊNDICES.....	76
	APÊNDICE A – QUANTIDADE DE <i>TMA</i> EXTRAÍDAS DAS CASCAS DA JABUTICABA (mg.L <sup>-1</sup> ).....	76
	APÊNDICE B - QUANTIDADE DE <i>TMA</i> EXTRAÍDAS DO REPOLHO ROXO (mg.L <sup>-1</sup> ).....	77
	APÊNDICE C – VALORES DE pH.....	78

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade de produtos alimentícios e o seu apelo visual está diretamente relacionado a cor (REYES; CISNEROS-ZEVALLOS, 2007). Entre a textura, o valor nutricional e a cor, essa última se destaca como um dos mais importantes atributos sensoriais de um alimento (SAYAR; ÖZDEMIR, 1998). Desta forma, admite-se que a qualidade e a quantidade de pigmentos presentes em um produto alimentício são essenciais na sua aceitação comercial (MORAIS *et al.*, 2002).

Inicialmente, corantes artificiais vinham satisfazendo as necessidades das indústrias alimentícias. Contudo, a substituição por corantes naturais tem sido fortemente defendida, sobretudo pela consciência dos consumidores, que cada vez mais buscam produtos que proporcionem efeito positivo sobre a saúde humana (BARROS; STRINGHETA, 2006). Apesar dos corantes sintéticos apresentarem menor custo de produção, maior estabilidade além de maior capacidade tintorial, um ponto a ser levado em consideração, é que o uso de aditivos sintéticos pela indústria de alimentos tem diminuído (FRANCIS; MARKAKIS, 1989).

No Brasil, em 1987, foi proibida a utilização de alguns corantes sintéticos, entre eles, o Amarelo Ácido, Azul de Indatreno, Vermelho Sólido E, Escarlata GN e Laranja GCN, restando permitido apenas o uso dos corantes Amarelo Crepúsculo, Azul Brilhante FCF, Bordeaux S ou Amaranto, Eritrosina, Indigotina, Ponceau 4R, Tartrazina e Vermelho 40. Com base nesta proibição, a indústria de alimentos tem recorrido a uma série de pigmentos naturais de origem vegetal e animal (LOPES *et al.*, 2007).

As antocianinas são consideradas os principais pigmentos naturais responsáveis pela coloração vermelha, azul e roxa de flores e frutos. As cores desenvolvidas, dependem, entre outros fatores, do pH do meio e da temperatura (TERCI, 2004).

Além de serem fontes naturais de corantes, as antocianinas contribuem com a eliminação de radicais livres que se formam durante os processos celulares e que são responsáveis pelo envelhecimento precoce dos tecidos. O organismo humano produz antioxidantes para combater os radicais livres, porém, a exposição a poluentes, alimentação desequilibrada e excessiva, consumo de tabaco, bebidas alcoólicas e gorduras, faz com que a produção de radicais livres seja superior a quantidade que o organismo consegue eliminar (DOWNHAM; COLLINS, 2000; HASLER, 2000; LAJOLO, 2002).

Falcão (2003) cita diversos trabalhos que indicam que esses pigmentos apresentam atividade anticarcinogênica, antioxidante e antiviral e essas propriedades são associadas aos alimentos que as contém. Como por exemplo os derivados da uva, principalmente o suco e o

vinho que são comumente relatados como benéficos à saúde pelo poder antioxidante proporcionado. Uma alternativa para o aumento do consumo de antioxidantes seria a incorporação de componentes com função antioxidante nos alimentos industrializados.

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

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

Das fontes naturais de corantes já pesquisadas, o repolho roxo (*Brassica oleracea*) é rico em antocianinas. Segundo Nakatani *et al.* (1987) e Ikeda *et al.* (1987) mais de 15 tipos de antocianinas estão presentes neste vegetal. De acordo com Bridle; Timberlake (1997) e Chigurupati *et al.* (2002) a acilação nos pigmentos do repolho roxo aumenta a estabilidade das antocianinas proporcionando uma qualidade superior na coloração.

No Brasil outra fonte promissora é a jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) que parece com a uva na aparência e textura, embora a sua casca seja mais espessa e mais resistente. Esta fruta tem a cor da casca roxo escuro a quase preto, devido a um elevado teor de antocianinas (TERCI, 2004).

A escolha das duas matérias-primas utilizadas foi baseada nas suas disponibilidades na época do ano, por apresentarem compostos antociânicos estáveis e possuírem vantagem comercial pelo fácil acesso na região oeste de SC e além disso baixo custo.

Os processos de separação e purificação das antocianinas dependem da maximização das quantidades envolvidas e da compreensão da interação entre antocianina e solvente, também são influenciados pela natureza química, pelo método de extração empregado, tamanho da partícula, tempo e condições de armazenamento, a presença de substâncias interferentes e a solubilidade desses compostos dependem do tipo de solvente utilizado bem como a interação dos fenólicos com outros constituintes alimentares (NACZK; SHAHIDI, 2004).

O método de extração mais utilizado na obtenção de antocianinas de frutas e hortaliças é por meio de solventes orgânicos (SILVA, 2011). A escolha de um método para extrair



antocianinas vai depender, além do propósito da extração, da natureza dos constituintes das moléculas de antocianinas (JACKMAN; SMITH, 1996), sendo igualmente importante que tais métodos não sejam complexos, demorados ou de alto custo. As antocianinas são geralmente muito solúveis em solventes polares e, portanto, são facilmente extraídas utilizando água, metanol e etanol.

Geralmente, a extração é realizada utilizando ácidos redutores, para prevenir a oxidação destes pigmentos (LEE; HONG, 1992). Concomitantemente com os solventes alcoólicos, segundo Favaro (2008) o uso de ácidos favorece a extração, pois auxilia na penetração do solvente nos tecidos das frutas e vegetais, além de aumentar a estabilidade dos extratos por dificultar o aparecimento de fungos que degradam as antocianinas.

O meio ácido também faz com que as antocianinas se encontrem predominantemente na forma de cátion flavilium, o qual apresenta coloração vermelha em solução aquosa (REVILLA *et al.*, 1998). O fato de o cátion flavílico ser estável em meio ácido torna indicável a utilização de solventes contendo ácidos orgânicos ou minerais na extração de antocianinas de frutas (CIPRIANO, 2011).

Em virtude do apresentado, fica evidente a importância das antocianinas bem como a determinação de processos para maximizar a extração deste pigmento. Neste sentido, o presente trabalho visa estudar a capacidade de soluções, envolvendo água e três diferentes álcoois na presença de diferentes concentrações de ácidos orgânicos, na extração de antocianinas presentes nas cascas da jabuticaba e nas folhas do repolho roxo.



## 2 OBJETIVOS

A seguir estão dispostos os objetivos para a realização deste trabalho.

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Obter extratos ricos nos pigmentos antociânicos a partir das cascas da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e das folhas do repolho roxo (*Brassica oleracea*).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a quantidade total de antocianinas monoméricas presentes nos extratos obtidos.

Avaliar a capacidade de extração de diferentes solventes, puros e em soluções binárias;

Investigar diferentes ácidos orgânicos combinados com diferentes solventes na extração de antocianinas.

Avaliar diferentes concentrações de ácidos orgânicos na extração de antocianinas.

Determinar a concentração de ácidos orgânicos e a combinação ótima com solventes para obter uma maior quantidade total de antocianinas monoméricas.



### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

A seguir está apresentado de forma sucinta, a fundamentação teórica necessária para o desenvolvimento do trabalho. Além disso, encontra-se descrita a metodologia utilizada.

#### 3.1 MATÉRIAS PRIMAS

Na sequência estão citadas e comentadas as matérias primas que foram utilizadas no presente experimento.

##### 3.1.1 Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)

Nativa do Brasil, a Jabuticabeira é conhecida desde o período do descobrimento. Sua fruta foi chamada pelos Tupis de Iapoti'kaba, que quer dizer “fruta em botão”, numa referência à sua forma arredondada (CIPRIANO, 2011). Frutífera pertencente à família *Myrtaceae*, floresce na primavera e no verão, produzindo grandes quantidades de frutos, os quais crescem em aglomerados no tronco e ramos (LIMA *et al.*, 2008).

A espécie é encontrada de norte a sul do país, desde o Pará até o Rio Grande do Sul, mas é na região sudeste do país que tem maior ocorrência e produtividade. Tradicionalmente é cultivada como planta de fundo de quintal em pomares domésticos, sendo sua comercialização mais frequente em feiras de produtos coloniais (SILVA, 2012).

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), embora popular em todo o país, não chega a ter um alto valor comercial, por ser muito perecível, porém, tem sua venda assegurada. Apesar de ser grande a produção de uma única árvore, depois de colhida, a fruta tem uma vida útil de até três dias, o que prejudica a sua comercialização. Em virtude disto e entre outros aspectos, empresas nacionais estão comercializando a polpa da jabuticaba nas formas congelada e em embalagens assépticas, o que implica na geração de uma grande quantidade de resíduos de suas cascas (SILVA, 2012).

Os frutos da jabuticabeira são classificados como baga, tem forma redonda ou arredondada, e, quando maduros, sua casca apresenta colorações roxa-escura ou preta. A polpa do fruto é branca, com leve acidez, doce e saborosa, com número de sementes podendo variar de uma a quatro (SASSO, 2009).

A jabuticaba é um fruto climatérico bastante interessante do ponto de vista nutricional, pois apresenta boa quantidade de niacina, ferro e antocianinas em sua composição. É rica em

compostos fenólicos, apresentando aproximadamente 3,14 mg.g<sup>-1</sup> de fruto, porém esses pigmentos naturais estão presentes apenas na casca da fruta (TERCI, 2004).

### 3.1.2 Repolho Roxo (*Brassica oleracea*)

O repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) é uma planta herbácea, folhosa, com grande versatilidade, não somente pelo seu valor nutritivo, sobretudo cálcio proteína e vitamina C (LÉDO *et al.*, 2000), mas também pelo seu caráter social por ser uma cultura em que se utiliza muita mão-de-obra, sendo cultivada essencialmente por pequenos agricultores (FILGUEIRA, 2000).

Existem duas espécies de repolho, o repolho liso (*B. oleracea* L. var. *capitata* L.), de maior expressão comercial no Brasil, e o repolho crespo (*B. oleracea* L var. *sabauda* Martens). São classificados segundo a forma (achatada e pontuda) e a cor da cabeça (verde ou branca e roxa) (ALMEIDA *et al.*, 2015).

O repolho roxo (*Brassica oleracea*) é uma hortaliça de cabeça, formada por folhas espessas, cerosas, conchoidais e imbricadas numa sobreposição de folhas. Destaca-se como fonte de vitamina C, mas também fornece vitaminas B1, B2, E e K, além de sais minerais, sobretudo cálcio e fósforo (SILVA *et al.*, 2007).

O repolho é uma hortaliça com importância econômica relevante no estado de Santa Catarina por apresentar a melhor distribuição de produção, e por ser cultivada em todas as regiões do estado. A variedade roxa possui uma alta concentração de antocianinas, em média 1,75 mg.g<sup>-1</sup> de repolho roxo, sendo uma fonte com alto potencial para uso industrial (LOPES *et al*, 2007).

## 3.2 ANTOCIANINAS

As antocianinas pertencem à família dos flavonóides, compostos polifenólicos cujas propriedades biológicas vêm sendo extensamente descritas na literatura. Apesar da abundância de antocianinas na natureza, padrões comerciais são escassos e apresentam custo elevado (CAMPOS, 2006).

As antocianinas compreendem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal e são especialmente características das angiospermas ou plantas com flores, que proporcionam a nossa principal fonte de produção de alimentos. Em plantas alimentícias, as

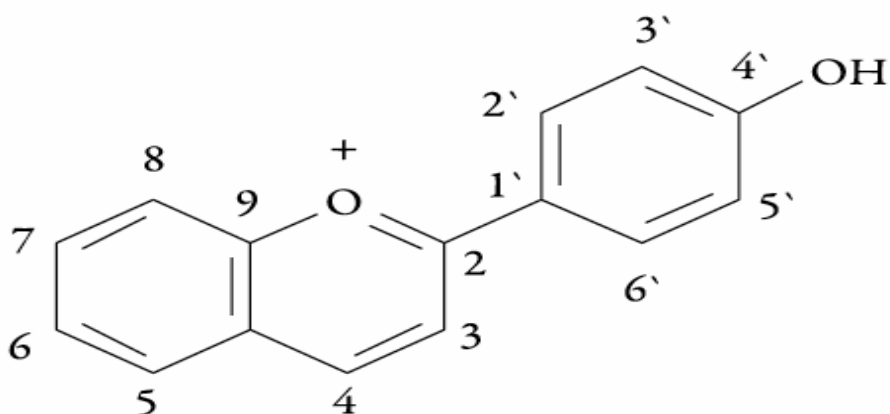
antocianinas são comuns em aproximadamente 27 famílias, 73 gêneros e uma infinidade de espécies (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997).

Segundo Schwartz *et al.* (2010) as antocianinas são responsáveis por diversas cores nas plantas, como azul, roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja. A palavra antocianina deriva do grego: anthos (flor) e kyanos (azul).

Uma das principais funções das antocianinas em flores e frutas é o poder de atrair agentes polinizadores e dispersores de sementes, além de proteger diversos tecidos da planta de processos oxidativos, durante diversas etapas de seu ciclo vegetativo, principalmente em fases iniciais de seu crescimento (EIBOND *et al.*, 2004).

As antocianinas são glicosídeos de antocianidinas, polihidroxi e polimetoxi derivados de 2-fenilbenzopirilium ou cátion flavilium, cuja estrutura está representada na Figura 1 (PROVENZI, 2006).

Figura 1 - Estrutura do cátion flavílico



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

Essa classe de compostos ocorre naturalmente na forma heteroglicosídica, contendo duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, frequentemente, um grupo de ácidos orgânicos (CIPRIANO, 2011).

Aproximadamente 22 agliconas são conhecidas, das quais 18 ocorrem naturalmente e apenas seis (pelargoidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvinidina) são importantes em alimentos (FRANCIS, 2000). Segundo Alves (2011), pelargoidinas são responsáveis pela coloração laranja, salmão, rosa e vermelho, enquanto que as cianidinas pela coloração vermelha e azulada e as delphinidinas pela púrpura. Na Tabela 1 são apresentados alguns exemplos de antocianinas frequentemente encontradas em frutas.

Tabela 1 - Antocianinas encontradas em frutas

<b>Antocianinas</b>	<b>Fonte</b>
pelargonidina	morango
cianidina	amora, ameixa, jambolão, uva, maçã
peonidina	jabuticaba, uva, ameixa
petunidina	uva
malvinidina	uva

Fonte: TERCI, 2004.

A distribuição das seis mais comuns antocianidinas em diferentes partes de frutas e vegetais é: cianidina – 50 %, delphinidina – 12 %, pelargonidina – 12 %, peonidina – 12 %, petunidina – 7 % e malvinidina – 7 %. Os derivados glicosídicos mais frequentes na natureza são 3-monosídeos, 3-biosídeos, 3,5- e 3,7-diglicosídeos. A presença dos derivados 3-glicosídeo é 2,5 vezes mais frequente que os derivados 3,5-diglicosídeos e, por conseguinte, a antocianina mais comum é a cianidina-3-glicosídeo (KONG *et al.*, 2003).

As antocianinas pertencem ao grupo dos flavonóides devido a sua característica de esqueleto carbônico  $C_6C_3C_6$  (SCHWARTZ *et al.*, 2010). São derivadas das antocianidinas, sendo que estas, não possuem grupos glicosídeos e a maioria é hidroxilada nas posições 3, 5 e 7. Já nas antocianinas, uma ou mais destas hidroxilas estão ligadas a açúcares, sendo os mais comuns: glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, aos quais podem estar ligados a ácidos fenólicos como: p-coumarílico, cafeico, ferúlico e vanílico. O açúcar presente nas moléculas de antocianinas confere maior solubilidade e estabilidade a estes pigmentos, se comparados com as antocianidinas (MARÇO *et al.*, 2008).

Diferentes grupos R e R' ligados nas posições 3, 5 e 7 e açúcares, assim como também os ácidos ligados a eles, é que vão dar origem aos diferentes tipos de antocianinas encontradas em frutas (TERCI, 2004). Segundo Hentz (2015), a coloração das soluções de antocianinas sofre influência do número de hidroxilas, grupos metoxilas e glicólicos presentes na estrutura. Então, quanto maior for o número de metoxilas, mais intensa será a cor vermelha; enquanto que mais hidroxilas e grupos glicólicos intensificam a cor azul.

Outros fatores também podem influenciar na coloração das soluções de antocianinas, tais como: presença de pequenas quantidades de outros pigmentos, quelação com metais, pH do fluido da célula vegetal e copigmentação com outros flavonóides (HENTZ, 2015).

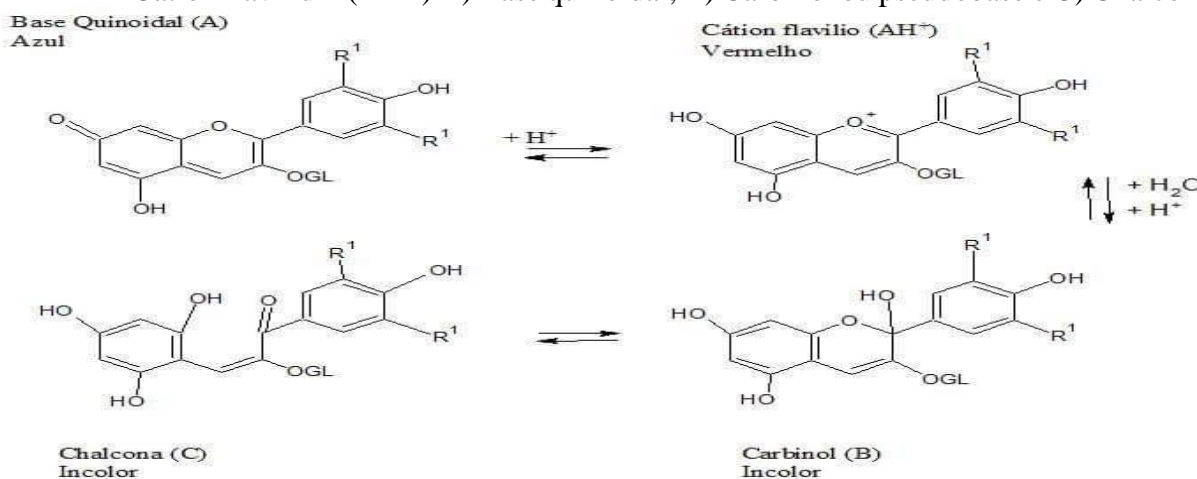
O principal mecanismo de estabilização das antocianinas em solução é a copigmentação, que pode envolver interações inter ou intramoleculares (MALIEN *et al.*, 2001). As interações



intermoleculares podem ocorrer por associação de duas ou mais moléculas de antocianina, envolvendo ou não um íon metálico. Também podem ocorrer por associação com outros compostos fenólicos, proteínas, açúcares, ácidos nucleicos, ácidos orgânicos e minerais, aminoácidos, alcaloides e outros flavonóides. Todos esses fatores levam a uma proteção efetiva contra o ataque nucleofílico pela água, principalmente nas posições 2 e 4, sendo confirmada por espectros de RMN-H (FAVARO, 2008).

Dentro de cada grupo há muitos compostos diferentes, e sua cor depende da presença e do número de substituintes ligados à molécula (DAMODARAN *et al.*, 2010). A Figura 2 apresenta as transformações estruturais das antocianinas em solução, com a mudança do pH do meio.

Figura 2 - Estruturas moleculares encontradas em solução aquosa com diferentes valores de pH. Cátion flavílio (AH<sup>+</sup>) A) Base quinoidal; B) Carbinol ou pseudobase e C) Chalcona



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

As antocianinas são consideradas como potenciais substitutos para os corantes sintéticos, devido às suas cores atrativas e, em grande parte, pela sua solubilidade em água, características que fazem delas pigmentos interessantes para posterior incorporação em uma grande variedade de sistemas alimentícios (BORDIGNON-LUIZ *et al.* 2007).

No entanto, a estabilidade dessas moléculas pode ser afetada ainda por diversos fatores além do pH, como a temperatura, sua estrutura química, concentração, luz, oxigênio, solventes, a presença de enzimas, outros tipos de flavonóides, proteínas e íons metálicos. A maior estabilidade de uma molécula de antocianina se dará em pH ácido, baixas temperaturas, baixa concentração de oxigênio, ausência de luz e baixa atividade de água (SCHWARTZ *et al.*, 2010).

Devido à alta reatividade, as antocianinas facilmente se degradam, ocasionando a formação de compostos incolores ou de coloração marrom e produtos insolúveis (COSTA, 2005).

O pH não só influencia a cor das antocianinas, mas também a estabilidade delas. A estrutura básica das antocianinas na forma de cátion flavílico ( $AH^+$ ) de cor vermelha é predominante em um pH inferior a 3; à medida que o pH aumenta o cátion perde um próton e sofre uma hidratação, formando uma pseudobase ou carbinol incolor em pH menor que 6; aumentando o pH acima de 6, o cátion flavílico perde prótons, formando a base quinoidal de cor azul; em pH 12 e 13 o carbinol se transforma por tautomerismo numa chalcona amarelo-pálida (ALVES, 2011).

### 3.3 SOLVENTES

Um solvente é uma substância líquida que tem a capacidade de dissolver outras substâncias e de formar com estas uma mistura uniforme a que se dá o nome de solução. A substância ou substâncias dissolvidas são designadas por soluto e, na mistura, encontram-se sempre em menor quantidade.

Diz-se que uma dada substância líquida tem poder solvente quando as suas moléculas constituintes têm a capacidade de vencer as forças de coesão que unem as moléculas que constituem o soluto (forças de Van der Waals, que são forças de natureza electromagnética) (RUSSEL, 1994).

Como a água é uma molécula polar com cargas levemente positivas e ligeiramente negativas, íons e moléculas polares podem se dissolver prontamente nela. As cargas associadas a essas moléculas formarão ligações de hidrogênio com a água, cercando a partícula com moléculas de água. Isto é referido como uma esfera de hidratação, ou um reservatório de hidratação, que serve para manter as partículas separadas ou dispersas na água.

Quando compostos iônicos são adicionados à água, os íons individuais reagem com as regiões polares das moléculas de água e suas ligações iônicas são rompidas no processo de dissociação. A dissociação ocorre quando átomos ou grupos de átomos se desprendem de moléculas e formam íons (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

O metanol, cuja fórmula molecular é  $CH_3OH$ , é um líquido incolor, com peso molecular igual a  $32,04 \text{ g.mol}^{-1}$ , possuindo um odor suave à temperatura ambiente. Desde sua descoberta, no final do século XVII, o metanol evoluiu para ser uma das matérias primas mais consumidas na indústria química. Já foi também chamado de álcool de madeira, devido a sua obtenção

comercial a partir da destilação destrutiva de madeira. Seus principais usos concentram-se na produção de formaldeído, metil tert-butil éter - aditivo para gasolina - e como combustível puro ou em mistura com gasolina para veículos leves (PEREIRA; ANDRADE, 1998). A Tabela 2 apresenta os valores de duas propriedades importantes dos solventes utilizados no presente estudo.

Tabela 2 - Propriedades dos solventes

<b>Solvente</b>	<b>Constante dielétrica (20 °C)<sup>a</sup></b>	<b>Momento dipolar<sup>a</sup></b>
água	80,10	1,85
metanol	33,00	1,70
etanol	25,30	1,69
isopropanol	20,18	1,58

Fonte: Elaborado pela autora, 2019. <sup>a</sup> LIDE, 1996.

O etanol, cuja fórmula molecular é  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ , é um líquido incolor com peso molecular  $46,07 \text{ g.mol}^{-1}$ , o qual tem sido descrito como um dos mais peculiares compostos orgânicos contendo oxigênio, dado sua combinação de propriedades como solvente, germicida, anti-congelante, combustível, depressivo, componente de bebidas, além de grande versatilidade como intermediário químico para outros produtos. Sob condições ordinárias, é um líquido incolor e claro, volátil, inflamável, possuindo um odor agradável e característico. Suas propriedades físicas e químicas dependem primeiramente do grupo hidroxila,  $-\text{OH}$ , o qual imputa polaridade à molécula, além de promover interações intermoleculares via ligações de hidrogênio. Essas duas características ocasionam as diferenças observadas entre os álcoois de baixo peso molecular (incluídos aí o metanol e o etanol) e os respectivos hidrocarbonetos. Estudos de espectroscopia no infravermelho mostram que, no estado líquido, as ligações de hidrogênio são formadas pela atração do hidrogênio da hidroxila de uma molécula pelo oxigênio da hidroxila da outra molécula. Tal efeito de associação faz com que o etanol no estado líquido se comporte como um dímero (PEREIRA; ANDRADE, 1998).

O Isopropanol possui fórmula  $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$  sendo um líquido incolor com peso molecular  $60,10 \text{ g.mol}^{-1}$ . Esse álcool contém uma porcentagem de água de menos de 1%. Isso se dá já que sua cadeia maior permite que ele tenha menos afinidade com a água tornando assim a sua separação da água mais fácil. Em seu aspecto ele não difere da maioria dos alcoóis de cadeia relativamente curta, sendo um líquido incolor com odor característico de álcool e altamente inflamável. Os cuidados no seu manuseio e estocagem são os mesmos que etanol e metanol. É um solvente muito bom para compostos orgânicos, incluindo organoclorados. Devido a essa

característica, ele é muito utilizado na indústria de tintas, vernizes e removedores. Uma característica muito importante desse álcool é que, diferente do etanol e metanol, é possível retirá-lo de uma solução aquosa através de uma técnica chamada salting out. Por ter uma cadeia carbônica maior que os outros dois alcoóis, ele tem uma afinidade menor com compostos polares. Adicionando qualquer sal inorgânico, como cloreto de sódio por exemplo, aumenta-se a polaridade da parte aquosa fazendo com que o isopropanol saia dessa fase e possa ser separado por um funil de decantação (GOMES, 2016).

### 3.4 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos são amplamente usados na indústria de alimentos como aditivos. Como agentes de processamento, são adicionados para controlar a alcalinidade de muitos produtos podendo agir como tampões ou simplesmente como agentes neutralizantes. Como conservantes, podem atuar desde agentes antimicrobianos até antioxidantes.

O ácido cítrico ou citrato de hidrogênio, de nome oficial ácido 2-hidroxi1,2,3-propanotricarboxílico, é um ácido orgânico fraco, que pode ser encontrado nos citrinos. É um ácido orgânico tricarboxílico presente na maioria das frutas, sobretudo em cítricos como o limão e a laranja. Sua fórmula química é  $C_6H_8O_7$ . Para emprego industrial, o ácido cítrico é fabricado pela fermentação aeróbica do açúcar bruto (sacarose) ou açúcar de milho (dextrose) por uma casta especial de *Aspergillus niger*. A acidez do ácido cítrico é devida aos três grupos carboxilas -COOH que podem perder um próton em soluções. Como consequência forma-se um íon citrato. Os citratos são bons controladores de pH de soluções ácidas. Seu maior emprego é como acidulante em bebidas carbonatadas e alimentos. No campo médico, é empregado na fabricação de citratos e de sais efervescentes (SHREVE; BRINK, 1980).

O ácido adípico é um ácido dicarboxílico, saturado, de cadeia normal, que apresenta fórmula molecular  $C_6H_{10}O_4$ , os estudos a respeito deste ácido são de grande importância e têm crescido consideravelmente devido a sua aplicabilidade nas indústrias de alimentos, farmacológica e principalmente na indústria química. Apesar de seu uso nas indústrias farmacológicas e sua aprovação como aditivo alimentar (INS355), a aplicação mais importante do ácido adípico é a produção do sal nylon um monômero do nylon, polímero de condensação descoberto por Wallace Carothers em 1935 (SNYDER, 1995). Tem efeito acidulante e flavorizante, ou seja, é capaz de tornar o sabor de alimentos e bebidas mais ácidos e disfarçar sabores indesejáveis oferecidos por outros componentes, por isso é aplicado à produção de

refrigerantes de frutas, queijos, marmeladas, pós para alimentos e como indutor da formação de géis que se assemelham com gelatinas e geleias.

O ácido nicotínico ou niacina, antigamente designada como B3 (terceira vitamina do complexo B a ser identificada), é uma vitamina hidrossolúvel pertencente ao grupo das vitaminas do complexo B. Sua síntese em humanos é insuficiente para suprir as necessidades metabólicas e, portanto, sua ingestão diária é fundamental. Além disso, a niacina, dependendo da dosagem, apresenta efeito farmacológico. Desta forma, a niacina tem dupla identidade: a primeira como vitamina e a segunda como fármaco (KARPE; FRAYN, 2004). Existe evidência que atue sobre receptores específicos diminuindo a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo. A niacina reduz os níveis de triglicérides (20-50%) e de LDL colesterol (5-25%), além de ser uma das drogas hipolipemiantes que mais aumenta o HDL colesterol (15-35%) (SANTOS *et al.*, 2001).

### 3.5 MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO

Há diversos métodos descritos na literatura para quantificar antocianinas (totais ou individuais), dentre os quais se destacam aqueles que envolvem: polarografia, colorimetria, espectrofotometria, cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência (FAVARO, 2008; TERCI, 2004).

O método do pH diferencial vem sendo amplamente utilizado para a quantificação de antocianinas. A proposta de Fuleki e Francis (1968) que fundamenta o método do pH diferencial está baseada na obtenção de espectros das soluções em dois valores de pH, visto que com a alteração do pH, observam-se transformações nas estruturas das antocianinas e, conseqüentemente, nas cores das soluções onde estão contidas (SILVA *et al.*, 2014). As leituras são feitas em dois comprimentos de onda, 510 nm, onde a absorção é máxima e 700 nm, que serve para corrigir eventuais espalhamentos de luz causados por partículas em suspensão, que de acordo com Fuleki e Francis (1968), podem estar presentes em extratos de frutas.

Vale destacar que dados de composição de extratos antociânicos de frutas não são triviais, já que, para uma mesma espécie vegetal, os tipos e proporções de antocianinas presentes podem variar em função de vários fatores como o clima, época da colheita e característica do solo (CAMPOS, 2006). Neste contexto, o método do pH diferencial para a quantificação de antocianinas totais representa uma das opções mais simples e vantajosas além de ser um método relativamente acessível e não apresentar alto custo.



## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Na presente seção são apresentados todos os materiais e metodologias aplicadas no desenvolvimento deste trabalho.

### 4.1 MATERIAIS

Os materiais usados no experimento estão citados abaixo.

#### 4.1.1 Vidrarias

As vidrarias utilizadas na elaboração deste trabalho estão descritas a seguir:

- balões volumétricos de 10 ml;
- balões volumétricos de 25 ml;
- bastões de vidro;
- béqueres de 50 ml;
- béqueres de 100 ml;
- béqueres de 250 ml;
- células encamisadas de 150 ml;
- kitassato de 500 ml;
- funis;
- vidros de relógio;
- cubetas de quartzo quadrada 3,5 mL, caminho ótico de 10 mm;

##### 4.1.1.1 Outros Materiais

Outros materiais que também foram utilizados para a realização do trabalho estão descritos a seguir:

- barras magnéticas;
- garras metálicas;
- mangueiras de silicone;
- papel filtro 90 mm de diâmetro e gramatura de 250 g.m<sup>-2</sup>;
- pipetas de pasteur de plástico;

- rolhas de silicone;
- suportes universal;

#### 4.1.2 Reagentes

Os reagentes utilizados no trabalho são apresentados na Tabela 3, sendo que a água utilizada tanto como solvente como para preparo de soluções, foi deionizada.

Tabela 3 - Fonte e pureza dos reagentes utilizados

Componentes	Origem	Fração Mássica*
água	laboratório	-
etanol	Dinâmica	>99,5%
metanol	Dinâmica	>99,8%
isopropanol	Dinâmica	>99,5%
ácido cítrico	Sigma Aldrich	>99,5%
ácido adípico	Sigma Aldrich	>99,5%
ácido nicotínico	Sigma Aldrich	>99,5%
cloreto de potássio	Biotec	>99,5%
acetato de sódio	Synth	>98,0%
ácido clorídrico	Biotec	>37,0 %
ácido acético	Synth	>99,7%

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

\*Atestado pelo fornecedor

#### 4.1.3 Equipamentos

Todos os equipamentos utilizados durante o decorrer deste trabalho são pertencentes ao Laboratório ApTher – Termofísica Aplicada, e estão apresentados logo abaixo:

- agitadores magnéticos modelo MS-PB, marca LAB 1000;
- banho ultra termostático modelo SL 152, marca SOLAB;
- estufa com circulação de ar;
- agitador eletromagnético para peneiras, BERTEL;
- peneiras de 16 mesh;
- processador de alimentos convencional;
- espectrofotômetro visível modelo GENESYS™ 30, marca Thermo Scientific;
- balança semi analítica modelo AD2000-R, marca Marte Científica;
- medidor de pH mpA 210;



## 4.2 MÉTODOS

A descrição dos métodos e as preparações pertinentes estão descritas nos tópicos seguintes.

### 4.2.1 Material Vegetal

Os frutos de Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) foram obtidos entre os meses de outubro e novembro de 2017, de diferentes produtores localizados na região oeste do estado de Santa Catarina. O repolho roxo (*Brassica oleracea*) foi adquirido no mercado da cidade de Pinhalzinho-SC durante o mesmo período.

Após a aquisição as matérias-primas foram higienizadas, as folhas do repolho-roxo separadas e as jabuticabas despulpadas. Em seguida, o material foi seco, separadamente, em estufa com circulação de ar por um período não inferior a 48 horas a uma temperatura de 45 °C.

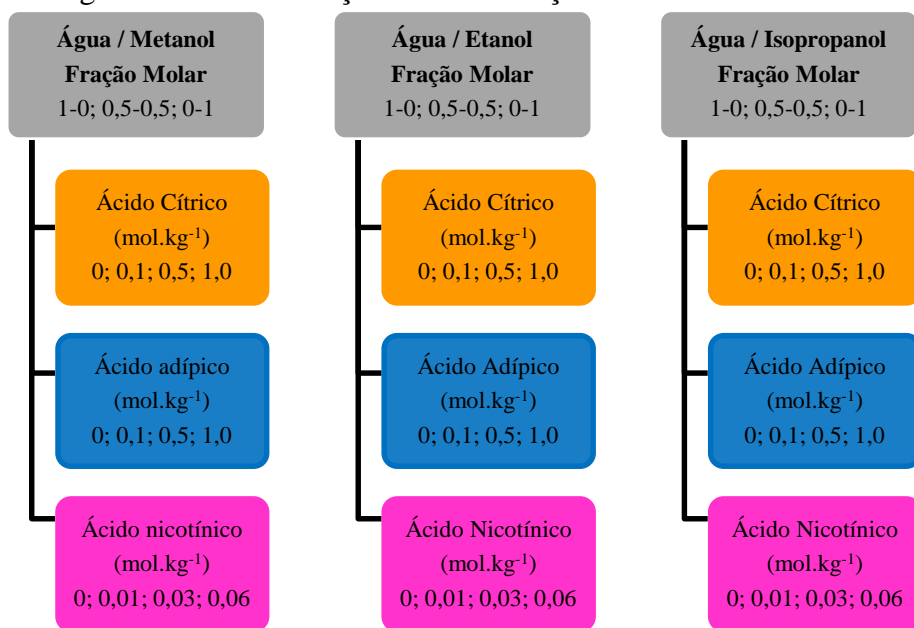
O material seco foi triturado em um processador de alimentos, separado em partículas menores que 16 mesh (1,19 mm) e acondicionado em porções de 2,5 gramas em embalagens seladas a vácuo e refrigerados a temperatura média de -6 °C em congelador até a realização da extração.

### 4.2.2 Preparo das soluções líquidas binárias combinadas com os ácidos orgânicos

Foram utilizados como solventes água, etanol, metanol e isopropanol puros e as soluções líquidas binárias água + etanol, água + metanol e água + isopropanol nas frações molares de 50%. Todos os solventes foram estudados na ausência de ácidos orgânicos e em seguida na presença de ácido cítrico e ácido adípico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> e ácido nicotínico nas concentrações de 0,01, 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup>, conforme a Figura 3, totalizando 108 pontos experimentais para cada matéria-prima.

Fixando-se a fração molar do componente de interesse e assumindo uma massa total da solução líquida binária a ser preparada calcula-se as quantidades individuais de cada componente no preparo da solução. Em seguida realizou-se a leitura do pH de cada solução para então dar início à extração.

Figura 3 - Fluxograma com combinações e concentrações de solventes com ácidos orgânicos



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

### 4.2.3 Extração

A técnica de extração empregada para obtenção de extratos de produtos naturais influencia diretamente em sua qualidade e em sua composição final. O procedimento de extração é determinado por um conjunto de diversos fatores, mas principalmente, pela família de compostos a ser extraída e se o objetivo é quantitativo ou qualitativo. Os métodos de extração dependem de fenômenos de difusão, logo, a renovação do solvente e a agitação são importantes para a eficácia e duração do processo (OLIVEIRA, 2010).

Após a leitura do pH, as soluções foram transferidas para células encamisadas (Figura 4), onde a extração foi realizada com procedimento conduzido em batelada agitada magneticamente e com temperatura controlada por um banho termostático. Em cada extração foi utilizada uma relação mássica de solvente para sólido de 60:1, visando uma maior extração.

Figura 4 - Células encamisadas



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

A extração foi conduzida por um período de 3 horas à temperatura de 25 °C. Em seguida filtrou-se a solução em papel filtro de 90 mm de diâmetro e gramatura de 250 g.m<sup>-2</sup>, com auxílio de uma bomba a vácuo (Figura 5).

Figura 5 - Filtração com bomba à vácuo



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

#### 4.2.4 Determinação da quantidade total de antocianinas monoméricas (TMA)

A quantidade total de antocianinas monoméricas (TMA) foi determinada por procedimento espectrofotométrico usando o método de pH diferencial (GIUST, 2001). O método é baseado na transformação estrutural da antocianina como uma função do pH em duas soluções tampão: cloreto de potássio, pH 1,0 e acetato de sódio pH 4,5. De acordo com o método a diferença em absorvância das soluções de pH 1,0 e 4,5 é diretamente proporcional à

concentração de *TMA*. Após a diluição do extrato antociânico (4:10) as soluções contendo antocianinas são transferidas para balões volumétricos onde seus volumes são completados com as respectivas soluções tampão. A absorvância das amostras tamponadas nos dois diferentes pHs são determinadas nos comprimentos de 510 nm e 700 nm.

A quantidade total de antocianinas monoméricas é calculada como mg/L de cianidina-3-glucosideo conforme representado pela Equação (1).

$$TMA = \frac{[(A_{510} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4,5}] \cdot MW \cdot DF \cdot 1000}{(\varepsilon \cdot 1)} \quad (1)$$

Na equação (1) *MW* representa a massa molar da cianidina-3-glucosidio (449,2 g.mol<sup>-1</sup>), *DF* é o fator de diluição da amostra,  $\varepsilon$  é o coeficiente de extinção molar da cianidina-3-glucosidio (26900 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>), 1000 representa a conversão de g para mg, 1 é o caminho da onda na cubeta em cm. As determinações foram realizadas utilizando um espectrofotômetro visível Thermo Scientific GENESYS™ 30.

#### 4.2.5 Determinação das incertezas

As incertezas das grandezas calculadas a partir de dados experimentais podem ser determinadas utilizando-se propagação de incerteza. A propagação de incerteza é expressa pela Equação genérica (2) que relaciona uma grandeza de saída *F* às grandezas das medidas experimentais de entrada *x*, *y*, *w*, *z*... (PUGH; WINSLOW, 1966).

$$F = F(x, y, w, z, \dots) \quad (2)$$

Assumindo que a correlação entre as *n* grandezas de entrada pode ser desprezada e que o modelo matemático expresso na Equação (2) é aproximadamente linear na região de interesse, é possível estimar a incerteza da grandeza de saída pela lei de propagação através da Equação (3).

$$\delta F = \left[ \left( \frac{\partial F}{\partial x} \right)^2 \cdot \delta x^2 + \left( \frac{\partial F}{\partial y} \right)^2 \cdot \delta y^2 + \left( \frac{\partial F}{\partial w} \right)^2 \cdot \delta w^2 + \left( \frac{\partial F}{\partial z} \right)^2 \cdot \delta z^2 + \dots \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

Para o caso das antocianinas monoméricas totais relacionando a Equação (1) com a Equação (3) temos a grandeza a ser calculada:

$$F = TMA;$$

E as grandezas das medidas experimentais:

$$x = A_{510} \text{ em pH } 1,0;$$

$$y = A_{700} \text{ em pH } 1,0;$$

$$w = A_{510} \text{ em pH } 4,5;$$

$$z = A_{700} \text{ em pH } 4,5;$$

Conhecendo a incerteza ( $\delta$ ) das leituras de absorvância do espectrofotômetro (atestado pelo fabricante  $\pm 0,002$ ) e realizando os cálculos obtêm-se a incerteza experimental de  $\pm 0,67 \text{ mg.L}^{-1}$ .



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na presente seção estão apresentados os resultados obtidos neste trabalho e suas respectivas considerações.

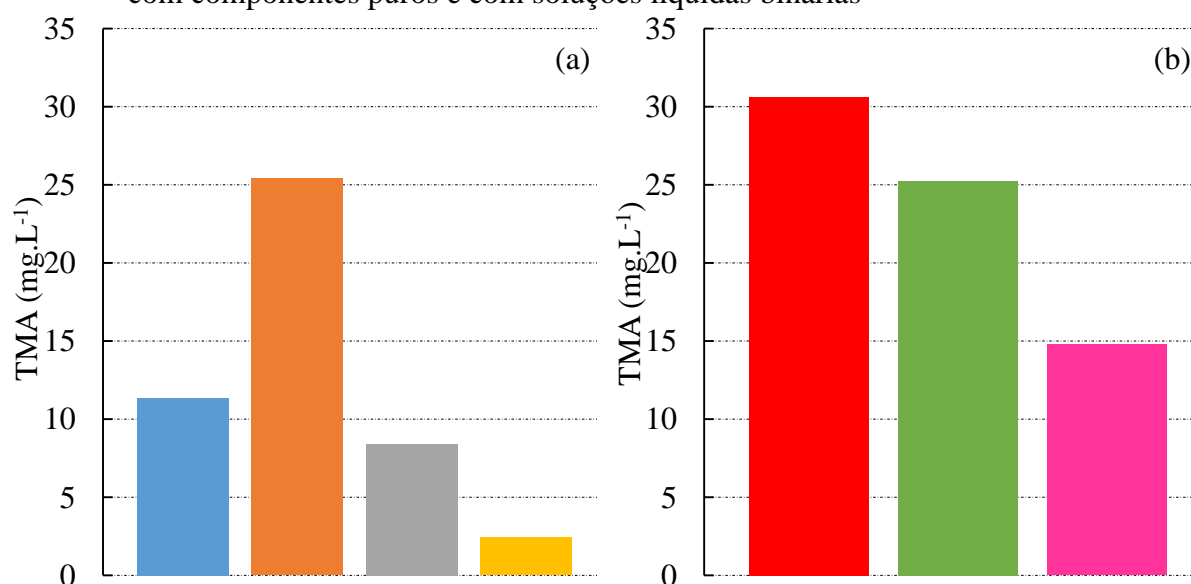
### 5.1 JABUTICABA

A seguir são apresentados os resultados e suas considerações desenvolvidos neste trabalho com a jabuticaba.

#### 5.1.1 Componentes Puros e soluções líquidas binárias

No presente estudo de acordo com a Figura 6 (a), entre os componentes puros utilizados para extração de *TMA* das cascas da jabuticaba o metanol obteve a maior concentração extraída, sendo 123,9% mais efetivo que a água, 202,6% do que o etanol e 945,5% do que o isopropanol. Todos os valores para as concentrações de *TMA* obtidos neste trabalho estão disponíveis nos apêndices A e B.

Figura 6 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jabuticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

(a) componentes puros : ● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; (b) soluções binárias: ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Para soluções líquidas binárias, conforme a Figura 6 (b), a solução água + metanol alcançou a maior concentração de *TMA* na jabuticaba, sendo 21,5% mais efetivo do que água + etanol e 107,2% do que água + isopropanol. Pode-se observar também que a solução água + metanol extraiu mais antocianinas monoméricas totais do que o metanol puro, sendo esse aumento de 20,5%. O mesmo acontece para água + etanol que foi 200,3% mais efetivo do que etanol puro e para água + isopropanol que foi 508,2% mais efetivo do que isopropanol puro.

Hentz (2015) encontrou para jabuticaba teores de antocianinas totais de 137, 169 e 435 mg/100 g<sub>ss</sub>, utilizando água, etanol e metanol respectivamente, enquanto neste trabalho, os resultados obtidos foram 68,34, 192,59 e 63,89 mg/100g<sub>ss</sub>, utilizando os mesmos solventes. Comparando os valores apresentados, no presente trabalho houve um aumento de 13,9% utilizando metanol, para os outros dois solventes os resultados obtidos foram inferiores ao encontrado na literatura.

Embora muitos autores prefiram utilizar o etanol (CACACE; MAZZA, 2003; FAN *et al.*, 2008; VALDUGA *et al.*, 2008; DAI *et al.*, 2009; PATIL *et al.*, 2009; KARACABEY; MAZZA, 2010) ao metanol, assim como no presente trabalho Metivier *et al.* (1980) também verificaram que o metanol foi 20% mais efetivo que o etanol e 73% mais eficiente que a água na extração de antocianinas de casca de uva.

As principais razões pelas quais muitos autores escolhem o etanol são pelo fato de ele não ser tóxico, por ser de baixo custo e pela alta eficiência extratora (FULEKI; FRANCIS, 1968; LAPORNIK *et al.*, 2005). Quando se trata da extração de antocianinas para alimentos, universalmente se utiliza o etanol acidificado (FRANCIS, 1982).

Um dos motivos pelo qual o metanol obteve uma melhor eficiência, quando comparado a água neste caso, é devido ao mecanismo de atuação dos solventes orgânicos na extração de compostos bioativos de vegetais, onde ocorre a desnaturação das membranas celulares, permitindo a solubilização e a extração dos pigmentos, e a formação de um gradiente de concentração do interior do produto para o meio (FULEKI; FRANCIS, 1968; RODRIGUEZ-SAONA; WROLSTAD, 2001; CACACE; MAZZA, 2002; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

Outro fator a ser levado em consideração é a constante dielétrica dos solventes, o qual determina sua capacidade de separar partículas com diferentes cargas elétricas. Em um solvente com alta constante dielétrica, como a água (80,1), a separação de um íon positivo do negativo requer um pequeno trabalho e energia. Entretanto, em um solvente com constante dielétrica baixa, o processo requer mais energia. Isso explica a baixa concentração de *TMA* extraídas com isopropanol puro, devido a sua baixa constante dielétrica 20,18.

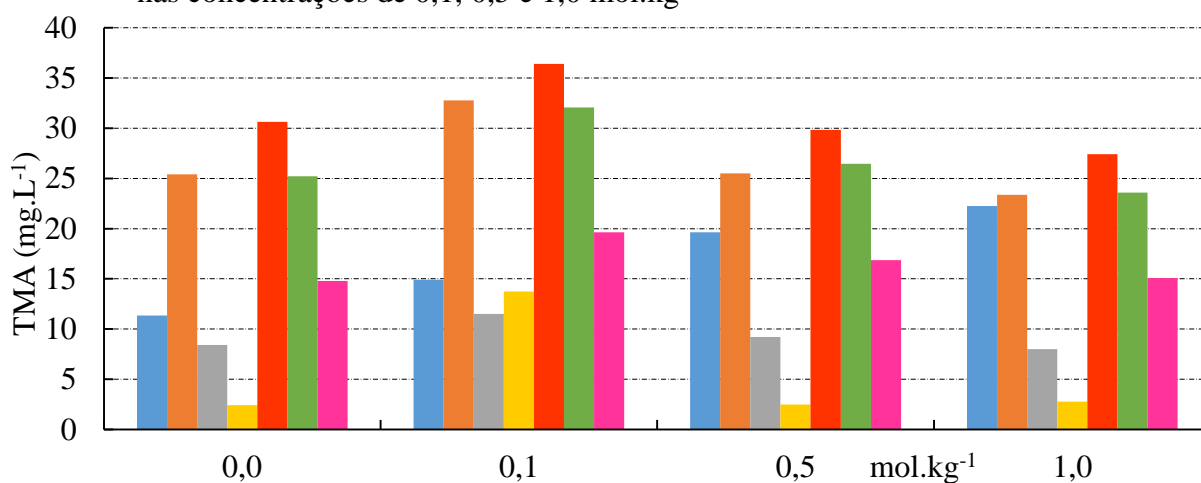


Conforme os valores obtidos na extração de *TMA* utilizando soluções líquidas binárias e fazendo uma comparação com os componentes puros, observa-se que as soluções líquidas binárias estudadas neste trabalho foram mais eficientes, visto que a água facilita a separação de diferentes íons devido à sua maior constante dielétrica. Sendo assim, as soluções líquidas binárias são uma ótima alternativa para a indústria de alimentos quando utilizadas como solventes para extração de *TMA*.

### 5.1.2 Ácido cítrico

Os resultados na Figura 7 apresentam as concentrações de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jabuticaba, com componentes puros e com soluções binárias na presença de ácido cítrico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup>.

Figura 7 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jabuticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido cítrico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup>



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Utilizando a água como solvente, observa-se que conforme a concentração de ácido cítrico aumenta, aumenta também a quantidade de antocianinas monoméricas totais extraídas, sendo esse aumento de 31,4%, 73,1% e 96,1% para 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> respectivamente, quando comparados a água na ausência de ácido cítrico.

Para os solventes puros, metanol, etanol e isopropanol não se observa este mesmo comportamento, porém houve um aumento da quantidade de antocianinas extraída com

0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico quando comparados aos componentes puros na ausência de ácido cítrico, sendo de 28,8%, 37,0% e 465,2% respectivamente para metanol, etanol e isopropanol.

Ao utilizar-se as soluções líquidas binárias, as maiores quantidades de *TMA* extraídas foram observadas na presença de 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico gerando um aumento de 18,8%, 27,1% e 32,9% para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol respectivamente, quando comparados às soluções na ausência de ácido cítrico. Observa-se que utilizando a concentração de 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico a quantidade de *TMA* extraídas foi menor do que na ausência de ácido cítrico para metanol, etanol, água + metanol e água + etanol.

As antocianinas apresentam grande suscetibilidade a alterações de pH sendo mais estáveis em soluções de pH ácido do que alcalino. Na dissociação de ácidos, se a concentração de íon hidrogênio aumenta o pH diminui. Todos os valores de pH obtidos neste trabalho estão disponíveis no apêndice C.

No presente trabalho, os valores de pH nas extrações realizadas na ausência de ácido cítrico variaram entre 6,90 e 8,22. Como esperado, a presença de ácido cítrico fez com que os valores de pH baixassem variando entre 1,66 e 3,13. Assim, graus de dissociação, concentrações de espécies iônicas e moleculares variaram. Resumidamente, em pH entre 1 e 2, o cátion flavílico predomina, favorecendo o rendimento da extração apresentando uma coloração intensamente avermelhada das antocianinas (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

Em contrapartida, segundo Todaro *et al.*, 2009 e Mosier *et al.*, 2002 elevadas concentrações de ácidos orgânicos, podem destruir as membranas celulares, dissolver simultaneamente os fenólicos e as antocianinas. O que explica o decréscimo nos teores de antocianinas com o aumento da concentração de ácido orgânicos estudados neste trabalho, visto que de modo geral, 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> foi a concentração que apresentou os melhores resultados para os três ácidos estudados.

Os maiores níveis de *TMA* foram obtidos pelo ácido cítrico. Considerando que o ácido cítrico tem uma forte capacidade quelante para as antocianinas, o co-pigmento pode dissolver as antocianinas e estabilizá-las.

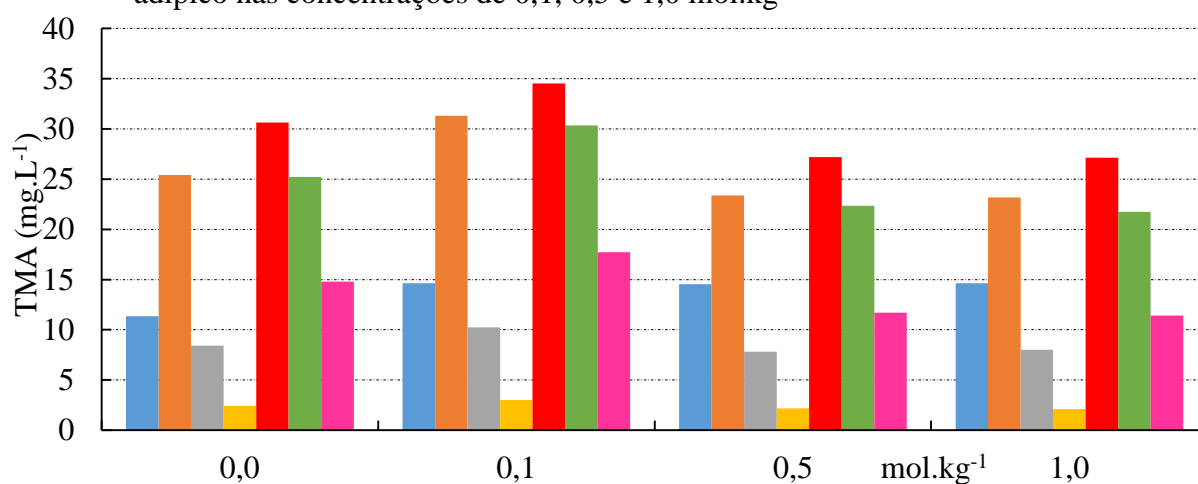
### 5.1.3 Ácido adípico

Os resultados na Figura 8 apresentam as concentrações de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jabuticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido adípico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup>. Utilizando a água como solvente, observa-se um aumento de 28,7% na presença de 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido

adípico, porém quando aumenta-se a concentração de ácido adípico a quantidade de *TMA* se altera muito pouco.

Para os solventes puros, metanol, etanol e isopropanol houve um aumento da quantidade de *TMA* extraída com  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico quando comparados aos componentes puros na ausência de ácido cítrico, sendo de 23,1%, 21,9% e 22,7% respectivamente para metanol, etanol e isopropanol.

Figura 8 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jabuticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido adípico nas concentrações de  $0,1$ ,  $0,5$  e  $1,0 \text{ mol.kg}^{-1}$



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Ao utilizar-se as soluções binárias, as maiores quantidades de antocianinas extraídas foram observadas na presença de  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico gerando um aumento de 12,7%, 20,3% e 20,0% para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol respectivamente, quando comparados às soluções na ausência de ácido adípico. Observa-se que utilizando as concentrações  $0,5$  e  $1,0 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico a quantidade de antocianinas extraídas foi menor do que na ausência de ácido adípico para os solventes alcoólicos puros e também para as soluções binárias.

Fazendo uma comparação ilustrativa com Lima *et al.*, (2011) que utilizaram etanol acidificado com ácido clorídrico na extração de antocianinas presentes nas cascas da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), obtendo  $159 \text{ mg}/100 \text{ g}_{\text{ss}}$  de antocianinas com este trabalho onde utilizou-se etanol na presença de  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico obtendo um teor de  $77,86 \text{ mg}/100 \text{ g}_{\text{ss}}$  de antocianinas. Levando em consideração as variáveis envolvidas nas condições de extração, a

diferença de cultivares e/ou mistura de variedades, da época de colheita, do clima e do solo das regiões produtoras a diferença nos teores de antocianinas é relevante.

No presente trabalho, a adição de ácido adípico na extração de antocianinas fez com que os valores de pH diminuíssem quando comparados aos solventes sem adição de ácidos orgânicos, variando entre 2,37 e 4,81, favorecendo assim o rendimento da extração devido a presença do cátion flavílico que é formado em pH mais baixo (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009). Porém, como citado anteriormente, elevadas concentrações de ácidos orgânicos, podem destruir as membranas celulares dissolvendo as antocianinas. Também é possível observar, através do apêndice C, que conforme a concentração de ácido adípico aumenta, os valores de pH pouco se alteram.

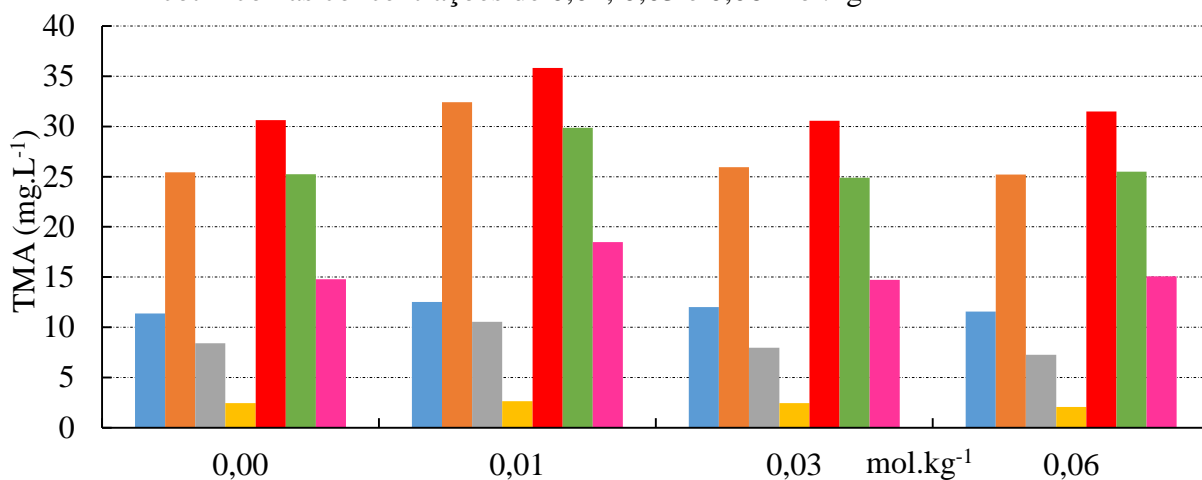
#### 5.1.4 Ácido nicotínico

Os resultados na Figura 9 apresentam as concentrações de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas jabuticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido nicotínico nas concentrações 0,01, 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup>. Utilizando a água como solvente, observa-se um aumento de 10,1% quando adiciona-se 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico, porém quando aumenta-se a concentração de ácido nicotínico a quantidade de *TMA* pouco se altera, sendo que aumentou 5,7% e 1,8% para as concentrações de 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup> respectivamente.

Para os solventes puros, metanol, etanol e isopropanol houve um aumento da quantidade de *TMA* extraída com 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico quando comparados aos componentes puros na ausência de ácido cítrico, sendo de 27,5%, 25,5% e 8,1% respectivamente para metanol, etanol e isopropanol.

Ao utilizar-se as soluções binárias, as maiores quantidades de *TMA* extraídas foram observadas com adição de 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico gerando um aumento de 16,9%, 18,4% e 24,9% para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol respectivamente, quando comparados às soluções com ausência de ácido nicotínico. Observa-se que utilizando as concentrações 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico para os solventes alcoólicos puros e também para as soluções binárias a quantidade de *TMA* extraída foi aproximadamente igual ou menor do que na ausência de ácido nicotínico.

Figura 9 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas das cascas da jabuticaba, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido nicotínico nas concentrações de 0,01, 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup>



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

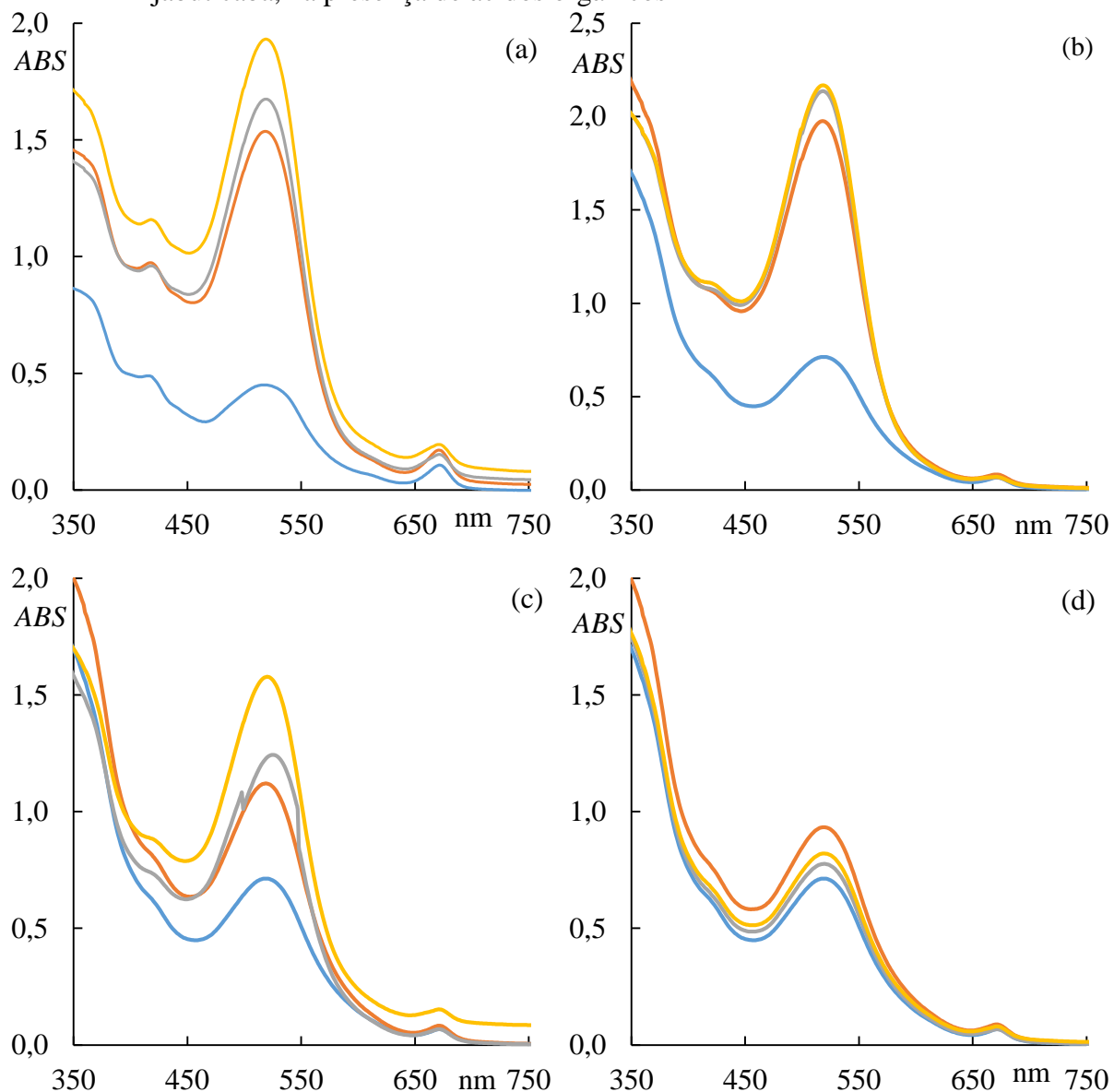
Kato *et al.* (2012), em sistema convencional com etanol 60%, acidificado com ácido clorídrico, obteve resultado igual a 203,67 mg/100 g para antocianinas encontradas na uva (*Vitis vinifera L.*) enquanto no presente trabalho, o resultado obtido na extração de antocianinas das cascas da jabuticaba utilizando água + etanol com adição de 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico foi 227,15 mg/100 g, sendo esta comparação apenas ilustrativa visto que as matérias primas e condições de extração são diferentes.

O fator determinante nos teores de antocianinas foi a condição do pH. No presente trabalho, os valores de pH nas extrações realizadas na presença de ácido nicotínico variaram entre 3,36 e 4,71. Quanto mais baixo o pH, maior foi a concentração de antocianinas, confirmando a teoria apresentada por Francis (1982) onde é dito que se deve manter o pigmento na forma H<sup>+</sup> do cátion flavillium. Os menores valores de pH foram obtidos na presença de ácido cítrico, seguido do ácido adípico e depois do ácido nicotínico.

### 5.1.5 Espectros de varredura da absorbância de antocianinas da jabuticaba

A análise quantitativa de antocianinas, foi estudada pelo método de pH diferencial. O espectro de absorção das antocianinas situa-se na faixa de 520-530 nm. Na Figura 10 são apresentados os espectros de varredura visível dos solventes que se destacaram na extração de TMA possibilitando a melhor visualização dos picos de absorbância. Cabe destacar que os dados aqui apresentados estão em consonância com outros já existentes na literatura (COUTO *et al.*, 1998; RAMOS *et al.*, 2000).

Figura 10 - Espectros de varredura da absorvância de antocianinas extraídas das cascas da jabuticaba, na presença de ácidos orgânicos



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

(a) metanol e ácido cítrico; (b) água + metanol e ácido cítrico (c) água + metanol e ácido adípico; (d) água + metanol e ácido nicotínico;

Concentrações de ácido cítrico e ácido adípico ( $\text{mol.kg}^{-1}$ ): ● 0,0; ● 0,1; ● 0,5; ● 1,0;

Concentrações de ácido nicotínico ( $\text{mol.kg}^{-1}$ ): ● 0,00; ● 0,01; ● 0,03; ● 0,06;

Conforme a Figura 10(a), utilizando metanol na presença de ácido cítrico o comprimento de onda de 519 nm proporciona um pico máximo de absorvância para antocianinas, sendo a absorvância de 0,4501, 1,537, 1,675 e 1,932 respectivamente para as concentrações de 0, 0,1, 0,5 e 1,0  $\text{mol.kg}^{-1}$  de ácido cítrico.

De acordo com a Figura 10(b) utilizando água + metanol na presença de ácido cítrico o comprimento de onda de 518 nm promove um pico máximo de absorvância para antocianinas,

sendo a absorvância de 0,713, 1,976, 2,136 e 2,167 respectivamente para as concentrações de 0, 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico.

A Figura 10(c) demonstra o emprego de água + metanol na presença de ácido adípico, sendo que o comprimento de onda de 519 nm provocou um pico máximo de absorvância de 0.713 e 1.121 respectivamente para as concentrações de 0 e 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico. Para 0,5 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico o pico máximo de absorvância foi 1,243 em 520 nm e para 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> esse pico máximo de absorvância foi 1,578 evidenciado em 526 nm.

Segundo a Figura 10(d) onde utilizou-se água + metanol na presença de ácido nicotínico, é possível verificar que o pico máximo de absorvância foi de 0,713 na ausência de ácido nicotínico onde o comprimento de onda variou entre 517 nm e 521 nm. Para 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico o pico máximo de absorvância foi 0,933 e para 0,06 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico o pico máximo de absorvância foi 0,820 que ficaram entre os comprimentos de onda 518 nm e 520 nm. Para 0,03 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico o pico máximo de absorvância foi 0,776 entre os comprimentos de onda 519 nm e 520 nm.

Conforme a concentração de ácidos aumenta, conseqüentemente a concentração de íon hidrogênio aumenta e o pH diminui. Quando o valor do pH está próximo a 4,5 o extrato que contém antocianinas, se apresenta em condições que praticamente não apresentam coloração, ou seja, apresentam menor absorção de energia. Por outro lado, quando reduz o pH para valores próximos a 1,0, os pigmentos antociânicos, exibem coloração vermelha intensa, sendo sua absorvância máxima (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

Como mencionado anteriormente, a mudança nos máximos de absorção se deve às reações de equilíbrio que ocorrem com o cátion flavilium, quando se eleva o pH do meio (BROUILLARD; DELAPORTE, 1977). Essas reações levam a uma configuração estrutural das antocianinas em que, conforme se aumenta o pH, ocorre uma diminuição do número de ligações duplas conjugadas, que são responsáveis pelo aumento nos máximos de absorção das substâncias, pela protonação do cátion flavilium (RAMOS *et al.*, 2000). Com a diminuição das ligações duplas conjugadas, os máximos de absorção das antocianinas tendem a diminuir, o que caracterizaria a perda de coloração.

Os resultados aqui obtidos estão de acordo com o estudo desenvolvido por Março e Scarmínio (2007), que evidenciaram a formação do cátion flavilium em pH fortemente ácido (pH = 1,0 e 3,2), e também por Lee *et al.* (2005), que verificaram a formação de carbinol em solução levemente ácida.

De modo geral é possível observar que conforme a concentração de ácidos aumenta, também aumenta a absorção de antocianinas, porém não são as maiores concentrações de ácidos orgânicos que apresentam as maiores quantidades de *TMA*.

## 5.2 REPOLHO ROXO

A seguir são apresentados os resultados e suas considerações desenvolvidos neste trabalho com o repolho roxo.

### 5.2.1 Componentes Puros e soluções líquidas binárias

No presente estudo de acordo com a Figura 11(a), entre os componentes puros utilizados para extração de *TMA* do repolho roxo a água apresentou a maior capacidade de extração, sendo 159,0% mais efetivo que o metanol, 6510,9% do que o etanol e 6421,6% do que o isopropanol.

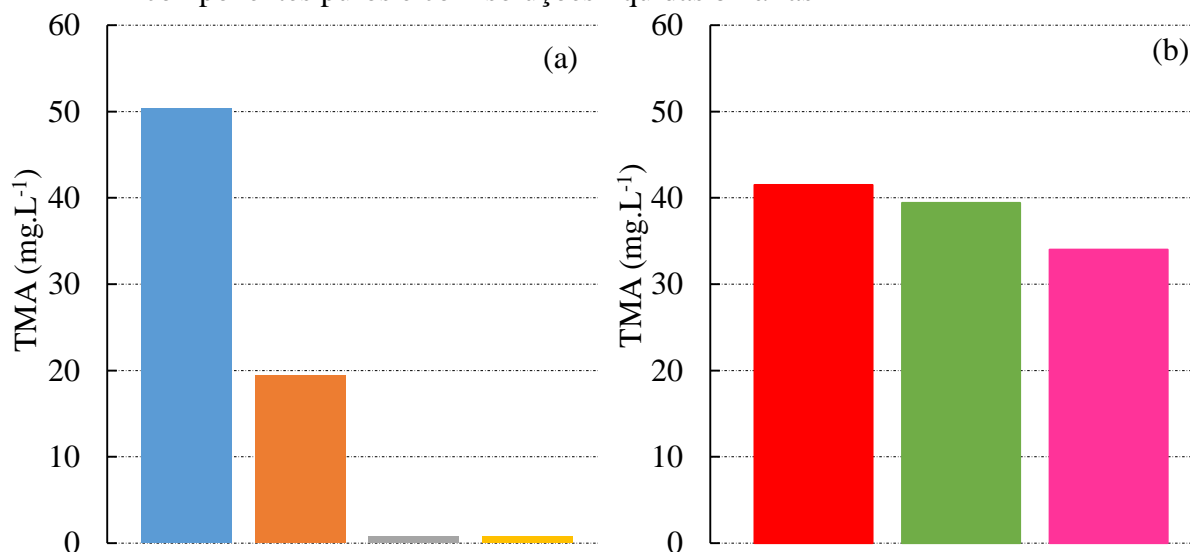
Para soluções líquidas binárias, conforme a Figura 11(b), a solução água + metanol alcançou a maior concentração de *TMA* no repolho roxo, sendo 5,2% mais efetivo do que água + etanol e 21,9% do que água + isopropanol. Fazendo uma comparação entre os componentes puros e soluções líquidas binárias, pode-se observar que utilizando a água pura como solvente extraiu-se 21,4% de *TMA* a mais do que a solução líquida binária água + metanol. O mesmo não acontece para os solventes alcoólicos puros, que quando combinados com a água foram mais efetivos na extração de *TMA*. Sendo que a água + metanol foi 113,4% mais eficiente do que o metanol puro, a solução água + etanol foi 5075,3% mais efetiva do que etanol puro e a solução água + isopropanol foi 4305,4% mais efetivo do que isopropanol puro.

Sabe-se que compostos fenólicos são moléculas polares, portanto a extração é altamente pela polaridade. Entre os componentes puros, a água foi mais eficiente que o metanol devido à maior polaridade (momento dipolar de água e metanol são 1,85 e 1,70, respectivamente).

Outra justificativa para o baixo valor de antocianinas extraídas do repolho roxo com solventes orgânicos puros pode ser devido a não-extração de antocianinas hidrofílicas e diminuição da concentração de água (CHANDRASEKHAR *et al.*, 2012) bem como a desidratação e colapso das células vegetais e desnaturação das proteínas da parede celular, dificultando a difusão dos polifenóis da planta através do líquido de extração (GARCIA-CASTELLO *et al.*, 2015).



Figura 11 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

(a) componentes puros : ● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; (b) soluções binárias:

● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Foi relatado que a presença de pequenas quantidades de água é necessária para a extração de antocianinas hidrofílicas (PATIL *et al.*, 2009), o que confirma os resultados acima. Assim, pode-se concluir que os solventes alcoólicos puros não são preferíveis na extração de antocianinas do repolho roxo e quando associados a água apresentam melhores resultados.

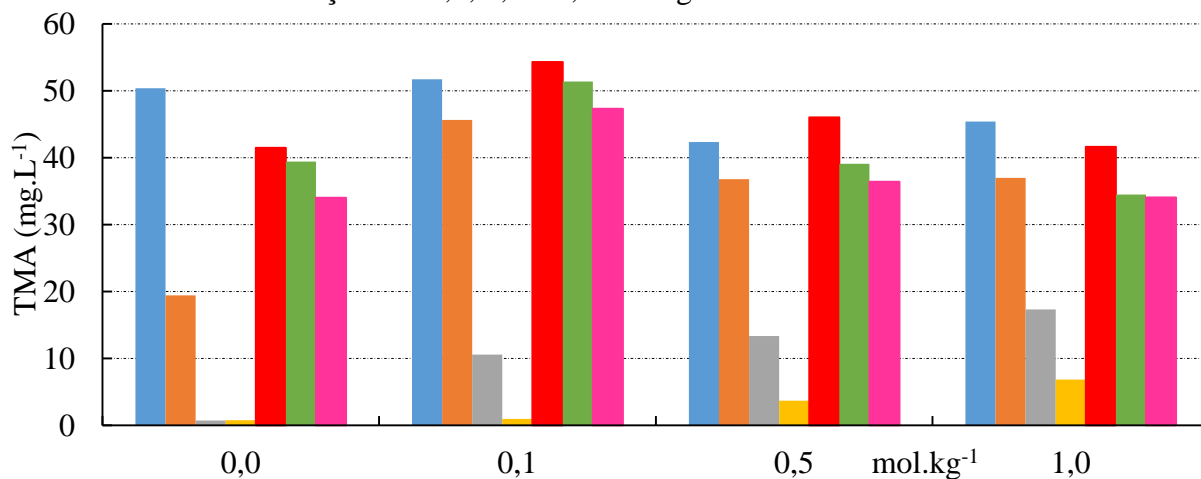
### 5.2.2 Ácido cítrico

Os resultados na Figura 12 apresentam as concentrações de *TMA*, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido cítrico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup>. Utilizando a água como solvente, observa-se que na concentração de 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico houve um aumento de 2,7% na extração de *TMA* quando comparado a água na ausência de ácido cítrico, já nas concentrações de 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico houve um declínio na quantidade de *TMA* extraída.

Para o metanol observa-se um comportamento semelhante onde a concentração de 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico se destacou com um aumento de 134,7%, seguido das concentrações 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> nas quais houve um aumento de 89,3% e 90,2% respectivamente, quando comparados ao metanol na ausência de ácido cítrico. Para os solventes puros etanol e isopropanol observa-se que conforme a concentração de ácido cítrico aumenta, aumenta a quantidade de *TMA* extraída do repolho roxo. Sendo para o etanol este aumento de

1291,8%, 1652,0% e 2175,3% para 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> respectivamente e para o isopropanol este aumento de 29,8%, 381,1% e 787,8% para 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> respectivamente, quando comparados aos solventes na ausência de ácido cítrico.

Figura 12 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido cítrico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup>



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Ao utilizar-se as soluções líquidas binárias, as maiores quantidades de *TMA* extraídas foram observadas com adição de 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico gerando um aumento de 30,7%, 30,4% e 39,1% para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol respectivamente, quando comparados às soluções na ausência de ácido cítrico. Observa-se que utilizando a concentração de 0,5 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico houve um aumento de 10,9% para água + metanol e 7,1% para água + isopropanol quando comparado as soluções na ausência de ácido cítrico, já a solução água + etanol para esta concentração extraiu menos. Utilizando 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico, as soluções água + metanol e água + isopropanol apresentaram um aumento menor do que 1% quando comparadas as soluções na ausência de ácido cítrico, sendo que para a solução água + etanol a quantidade de antocianinas extraídas foi menor do que na ausência de ácido cítrico.

Como mostrado na Figura 12, a presença de 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> ácido cítrico garantiu maiores conteúdos de *TMA* extraídos do repolho roxo que pode ser atribuído a capacidade das antocianinas de formar complexos de metal-antocianina (BOULTON, 2001) atribuindo estabilidade a molécula.

No presente trabalho, os valores de pH nas extrações realizadas na ausência de ácidos orgânicos variaram entre 6,58 e 7,88. Como esperado, a presença de ácido cítrico fez com que os valores de pH baixassem variando entre 1,74 e 3,43. Assim, graus de dissociação, concentrações de espécies iônicas e moleculares variaram. Resumidamente, em pH próximo a 1, o rendimento da extração é favorecido visto que o cátion flavílico predomina nesta faixa de pH (CHEN *et al.*, 2013).

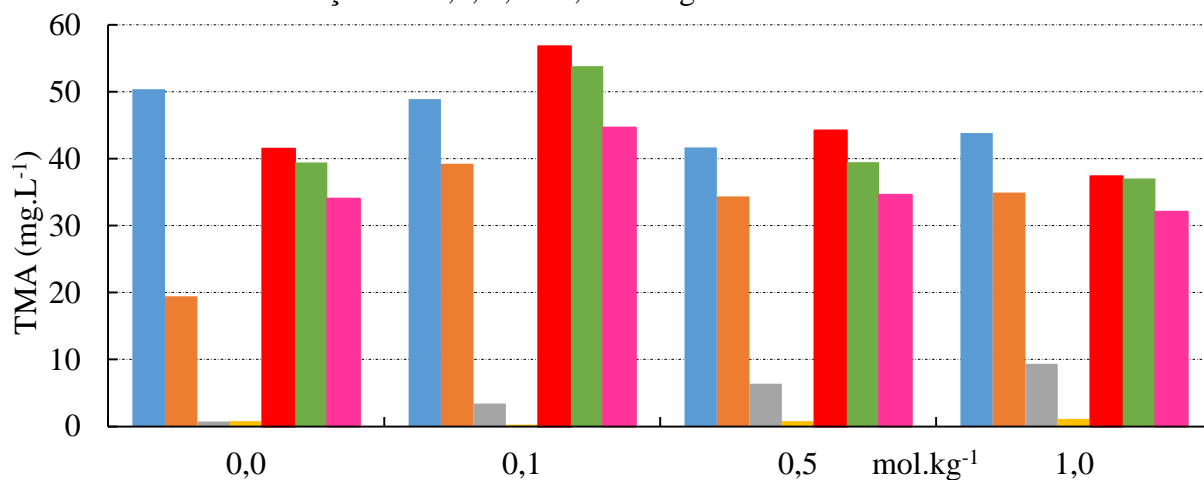
Conforme alguns autores (TODARO *et al.*, 2009; MOSIER *et al.*, 2002) relataram em seus trabalhos as membranas celulares podem ser destruídas com elevadas concentrações de ácidos orgânicos, dissolvendo simultaneamente os fenólicos e as antocianinas. O que explica o decréscimo nos teores de antocianinas com o aumento da concentração de ácido orgânicos estudados neste trabalho, visto que de modo geral, 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> foi a concentração que apresentou os melhores resultados para os três ácidos estudados.

### 5.2.3 Ácido adípico

Os resultados na Figura 13 apresentam as concentrações de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido adípico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup>. Utilizando a água como solvente, observa-se que com o aumento da concentração de ácido adípico a quantidade de *TMA* diminuiu, portanto neste caso a maior concentração de *TMA* foi na ausência de ácido adípico.

Para o metanol observa-se que a concentração 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico se destacou com um aumento de 101,8%, seguido das concentrações 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> nas quais houve um aumento de 76,8% e 79,8% respectivamente, quando comparados ao metanol na ausência de ácido adípico. Para o etanol, conforme a concentração de ácido adípico aumentou houve um aumento da quantidade de *TMA* extraída, sendo de 352,1%, 739,7% e 1126,0% respectivamente para 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> quando comparados ao etanol na ausência de ácido adípico. Utilizando isopropanol como solvente a maior quantidade de *TMA* foi possível com 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico, sendo 44,6% mais efetivo do que o isopropanol na ausência de ácido adípico. A concentração 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico extraiu menos *TMA* do que o isopropanol na ausência de ácido adípico e 0,5 mol.kg<sup>-1</sup> a mesma quantidade de *TMA* que o isopropanol na ausência de ácido adípico.

Figura 13 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido adípico nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup>



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Ao utilizar-se as soluções líquidas binárias, as maiores quantidades de antocianinas extraídas foram observadas na presença de 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico gerando um aumento de 36,9%, 36,5% e 31,2% para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol respectivamente, quando comparados às soluções na ausência de ácido adípico. Utilizando 0,5 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico também é possível observar um aumento quando comparados às soluções na ausência de ácido adípico, porém menores, sendo 6,6%, 0,1% e 1,7% para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol respectivamente. Observa-se que utilizando 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico a quantidade de antocianinas extraídas foi menor do que na ausência de ácido adípico para as três soluções líquidas binárias estudadas.

No presente trabalho, os valores de pH nas extrações realizadas com adição de ácido adípico variaram entre 2,43 e 4,56. Como descrito anteriormente sabemos que em condições ácidas, o cátion flavílium (cor vermelha) é uma espécie predominante, o que explica a maior quantidade de *TMA* extraída do repolho roxo na presença de ácido adípico.

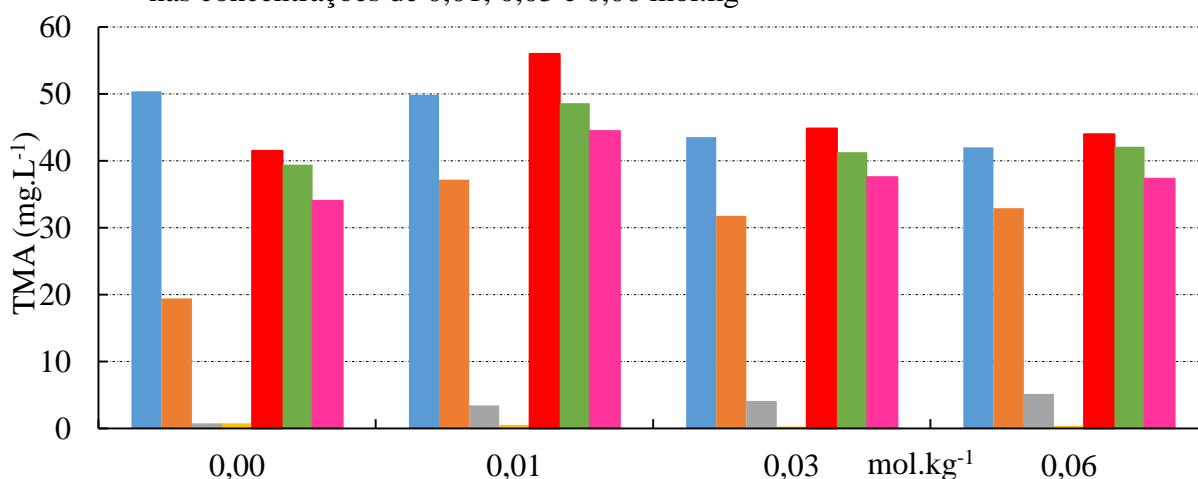
Ao utilizar 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido adípico foi possível observar o maior teor de *TMA* extraídas do repolho roxo quando comparados aos outros experimentos realizados no presente estudo. Neste contexto, o ácido adípico é mais eficiente do que os outros ácidos na extração de *TMA* e acrescenta propriedades conservantes ao extrato antociânico possivelmente aplicado em alimentos.

### 5.2.4 Ácido nicotínico

Os resultados na Figura 14 apresentam as concentrações de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido nicotínico nas concentrações de 0,01, 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup>. Utilizando a água como solvente, observa-se que com o aumento da concentração de ácido nicotínico a quantidade de *TMA* sofreu um decréscimo, portanto neste caso a maior concentração de *TMA* foi na ausência de ácido nicotínico.

Para o metanol observa-se que a concentração 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico se destacou com um aumento de 91,2%, seguido das concentrações 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup> nas quais houve um aumento de 63,4% e 69,4% respectivamente, quando comparados ao metanol na ausência de ácido nicotínico. Para o etanol, conforme a concentração de ácido nicotínico aumentou houve um aumento da quantidade de *TMA* extraída, sendo de 353,4%, 443,8% e 578,1% respectivamente para 0,01, 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup> quando comparados ao etanol na ausência de ácido nicotínico. Utilizando isopropanol como solvente, as três concentrações de ácido nicotínico estudadas neste trabalho extraíram menos *TMA* do que quando comparadas ao isopropanol na ausência de ácido nicotínico.

Figura 14 - Concentração de antocianinas monoméricas totais, extraídas do repolho roxo, com componentes puros e com soluções líquidas binárias na presença de ácido nicotínico nas concentrações de 0,01, 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup>



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Ao utilizar-se as soluções líquidas binárias, as maiores quantidades de *TMA* extraídas foram observadas na presença de 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico gerando um aumento de 35,0%, 23,3% e 30,6% para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol

respectivamente, quando comparados às soluções na ausência de ácido nicotínico. Utilizando 0,03 e 0,06 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico também é possível observar um aumento quando comparados às soluções na ausência de ácido nicotínico, porém menores.

No presente trabalho, os valores de pH nas extrações realizadas na presença de ácido nicotínico variaram entre 3,34 e 4,30. É possível observar que a presença 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico favoreceu a extração de *TMA*, visto que os valores de pH foram menores do que na ausência de ácidos, e que o cátion flavilium predomina em meios ácidos.

O ácido tende a estabilizar as antocianinas, mas também pode mudar a forma nativa do pigmento no tecido pela quebra das associações com metais, co-pigmento e/ou outros compostos (RODRIGUEZ-SAONA; WROLSTAD, 2001). O que pode explicar o que acontece quando aumenta-se muito a concentração de ácidos, como é possível observar na maioria dos casos, onde a menor concentração de ácido utilizada apresentou-se mais eficiente na extração de *TMA*.

### **5.2.5 Espectros de varredura da absorbância de antocianinas do repolho roxo**

Segundo Terci (2004), o espectro de absorção eletrônica das antocianinas é caracterizado por duas bandas separadas, uma na região do visível (465 nm a 550 nm) e outra na região do ultravioleta (270 nm a 280 nm).

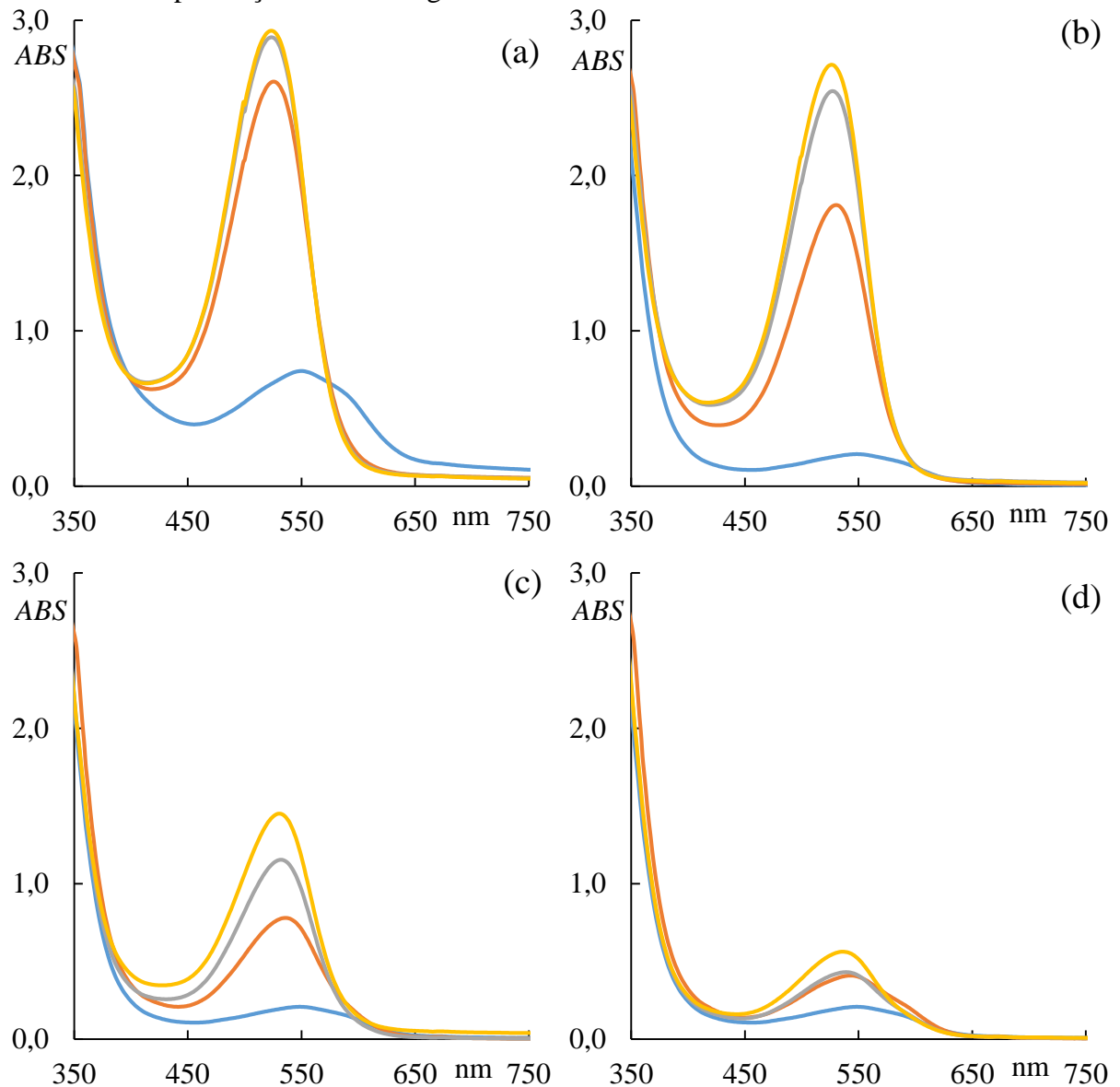
No espectro demonstrado pela Figura 15, está representado a leitura em espectrofotômetro das melhores condições de extração de *TMA* em repolho roxo, confirmando a maior absorbância em 524 nm, sendo que a faixa avaliada foi de 325 a 1100 nm.

Conforme a Figura 15(a), utilizando água na ausência de ácido cítrico o pico máximo de absorbância para antocianinas foi observado entre os comprimentos de onda de 549 e 551 nm. Para 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico o pico máximo de absorbância para antocianinas foi observado entre os comprimentos de onda de 525 e 526 nm sendo a absorbância de 2,604. Para as concentrações de 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> observou-se o pico máximo de absorbância entre 523 e 524 nm, sendo a absorbância de 2,890 e 2,931, respectivamente.

De acordo com a Figura 15(b) utilizando água + metanol na ausência de ácido cítrico os comprimentos de onda de 548 e 549 nm promovem um pico máximo de absorbância para antocianinas, sendo a absorbância de 0,208. Para 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido cítrico o pico máximo de absorbância para antocianinas foi observado entre os comprimentos de onda de 530 e 531 nm sendo a absorbância de 1,809. Para as concentrações de 0,5 e 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> observou-se o pico

máximo de absorvância de 527 nm e 526 nm, sendo a absorvância de 2,544 e 2,714, respectivamente.

Figura 15 - Espectros de varredura da absorvância de antocianinas extraídas do repolho roxo, na presença de ácidos orgânicos



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

(a) água e ácido cítrico; (b) água + metanol e ácido cítrico (c) água + metanol e ácido adípico; (d) água + metanol e ácido nicotínico;

Concentrações de ácido cítrico e ácido adípico ( $\text{mol.kg}^{-1}$ ): ● 0,0; ● 0,1; ● 0,5; ● 1,0;

Concentrações de ácido nicotínico ( $\text{mol.kg}^{-1}$ ): ● 0,00; ● 0,01; ● 0,03; ● 0,06;

A Figura 15(c) demonstra o emprego de água + metanol e ácido adípico, sendo que o comprimento de onda de 549 nm provocou um pico máximo de absorvância de 0.208 na ausência de ácido adípico. Para  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico o pico máximo de absorvância foi 0,708 entre 535 e 537 nm. Para  $0,5 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico o pico máximo de absorvância

foi 1,154 entre 531 e 533 nm e para 1,0 mol.kg<sup>-1</sup> esse pico máximo de absorvância foi 1,451 evidenciado entre 530 e 531 nm.

Segundo a Figura 15(d) onde utilizou-se água + metanol e ácido nicotínico, é possível verificar que o pico máximo de absorvância foi de 0,208 na ausência de ácido nicotínico onde o comprimento de onda variou entre 548 e 549 nm. Para 0,01 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico o pico máximo de absorvância foi 0,409 onde o comprimento de onda variou entre 541 e 545 nm. Para 0,03 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico o pico máximo de absorvância foi 0,431 no comprimento de onda 539 nm e para 0,06 mol.kg<sup>-1</sup> de ácido nicotínico o pico máximo de absorvância foi 0,563 que ficou entre os comprimentos de onda 535 e 537 nm.

Neste estudo, os espectros obtidos em espectrofotômetro têm fins apenas de demonstrar os picos de absorvância máxima de antocianinas, em extratos aquosos e/ou alcoólicos, em cada condição extrativa. Favaro (2008), testou a quantificação direta de antocianinas individuais a partir de medidas de absorvância em UV-VIS, obtendo indicações sobre as estruturas das antocianinas, através de padrões comerciais.

A diferença nas bandas de absorção máxima indica a presença de diferentes formas estruturais de antocianina em diferentes valores de pH (GIUSTI; WORLSTAD, 2001). De modo geral é possível observar que conforme a concentração de ácidos aumenta, conseqüentemente aumenta a concentração de íon hidrogênio e o pH diminui ocasionando uma maior absorção de antocianinas.

### 5.3 JABUTICABA X REPOLHO ROXO

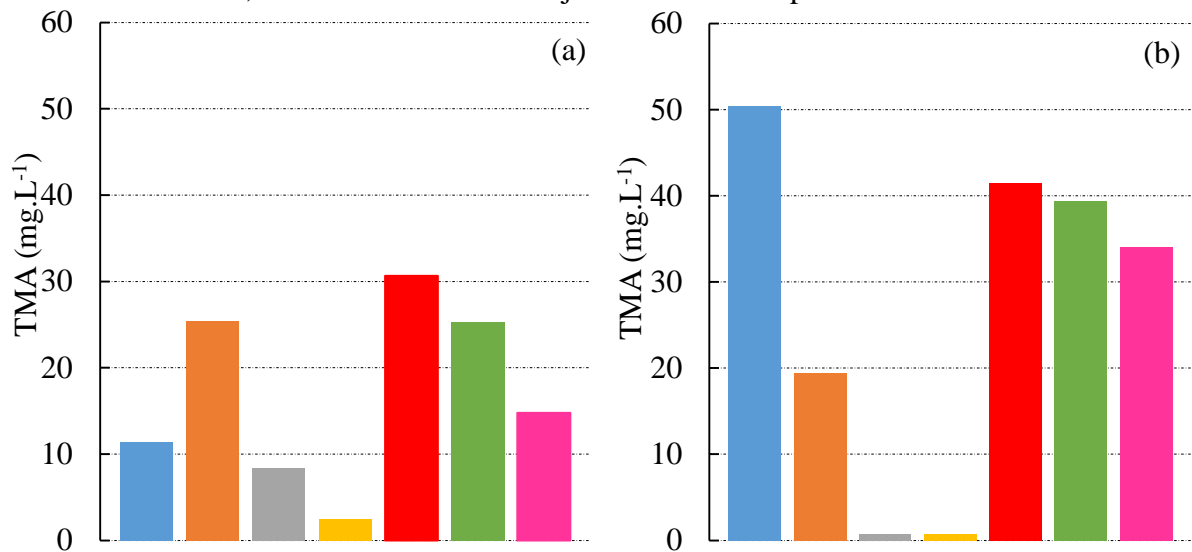
Os resultados na Figura 16, indicam a concentração de antocianinas monoméricas totais extraídas com componentes puros e com soluções líquidas binárias, das cascas da jabuticaba e do repolho roxo onde é possível observar as diferentes quantidades de *TMA* extraídas para as duas matrizes estudadas utilizando as mesmas soluções como solventes.

Utilizando água como solvente foi possível extrair 343,57% *TMA* a mais do repolho roxo do que das cascas da jabuticaba, para as soluções líquidas binárias o mesmo pode ser observado, sendo que foi extraído 35,39%, 56,31% e 130,06% a mais do repolho roxo do que das cascas da jabuticaba, respectivamente para água + metanol, água + etanol e água + isopropanol.

Para os solventes alcoólicos puros a maior concentração de *TMA* foi obtida das cascas da jabuticaba, sendo extraído 30,76%, 1002,74% e 214,86% a mais do que o repolho roxo, respectivamente para o metanol, etanol e isopropanol.



Figura 16 - Concentração de TMA extraídas com componentes puros e com soluções líquidas binárias, extraídas das cascas da jabuticaba e do repolho roxo



Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

(a) jabuticaba; (b) repolho roxo; ● água; ● metanol; ● etanol; ● isopropanol; ● água + metanol; ● água + etanol; ● água + isopropanol.

Para a jabuticaba a solução água + metanol obteve a maior concentração de *TMA*, já para o repolho roxo, a água se destacou com a maior concentração de *TMA*. É possível observar a maior concentração de *TMA* extraída do repolho roxo quando comparado as cascas da jabuticaba.

As comparações feitas neste item, são apenas ilustrativas visto que na extração de antocianinas, existem muitas variáveis e que não atuam isoladamente. O efeito de cada variável deve ser avaliado em conjunto, considerando todas as condições e principalmente a fonte de antocianinas, uma vez que a facilidade de extração não é a mesma para as diferentes matrizes vegetais.



## 6 CONCLUSÃO

Avaliando os resultados obtidos para os procedimentos de extração, conclui-se que foi possível determinar uma concentração de ácidos orgânicos e uma combinação ótima de solventes onde obteve-se uma maior quantidade total de antocianinas monoméricas a partir das cascas da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e das folhas do repolho roxo (*Brassica oleracea*).

A solução para extrair antocianinas das cascas da jabuticaba com melhor ação foi água + metanol na presença de  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido cítrico ( $36,40 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e para o repolho roxo a solução água + metanol na presença de  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico se mostrou mais eficiente ( $56,80 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

Para a extração de antocianinas das cascas da jabuticaba utilizando água + etanol na presença de  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido cítrico obteve-se  $32,60 \text{ mg.L}^{-1}$  de TMA e para o repolho roxo, utilizando água + etanol na presença de  $0,1 \text{ mol.kg}^{-1}$  de ácido adípico obteve-se  $53,82 \text{ mg.L}^{-1}$  de TMA. Levando em consideração a toxicidade do metanol, a utilização de água + etanol associada à ácidos orgânicos na extração de antocianinas mostrou-se hábil, sendo possível seu uso para fins alimentícios.

A utilização de ácidos orgânicos como coadjuvantes na extração de antocianinas provou-se eficiente, obtendo maiores concentrações de TMA e acrescentando características importantes para alimentos.

Tendo em vista a perspectiva de aplicação dos extratos antociânicos na indústria de alimentos, sugere-se a realização de estudos futuros afim da purificação dos extratos, bem como a influência de diversas variáveis que atuam na estabilidade das antocianinas. Conhecendo os benefícios dos compostos antioxidantes seria interessante avaliar a atividade antioxidante dos extratos antociânicos obtidos.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. C. *et al.* Obtenção de corante do repolho roxo (*Brassica oleracea*) por dois métodos de extração. **Revista verde**, v. 10, p. 47-51, 2015.
- ALVES, A. P. C. **Casca de jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg):** Processo de secagem e uso como aditivo em iogurte. 2011. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2011.
- BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P.C. Microencapsulamento de antocianinas. **Biotecnologia, ciência & desenvolvimento**, v. 36, p. 18-24, 2006.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992.
- BORDIGNON-LUIZ, M. T. *et al.* Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. **LWT – Food science and technology**, v. 40, p. 594-599, 2007.
- BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. **American journal of enology and viticulture**, v. 52, p. 67-87, 2001.
- BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours selected aspects. **Food chemistry**, v. 58, p. 103-109, 1997.
- BROUILLARD, R.; DELAPORTE, B. Chemistry of anthocyanin pigments, kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration, and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside. **Journal of american chemical society**, v. 99, p. 8461, 1977.
- CACACE, J. E.; MAZZA, G. Extration of anthocyanins and other phenolics from black currants with sulfured water. **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 50. p. 5939-5946, 2002.
- CACACE, J. E.; MAZZA, G. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. **Journal of food science**, v. 68, p. 240-248, 2003.
- CAMPOS, D. D. P. **Extração, purificação e isolamento de antocianinas de jambolão (*syzygium cumini*) e avaliação dos seus efeitos biológicos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. *et al.* Evaluación del contenido de metales y su efecto en la estabilidad de antocianinas. **CYTA Journal of food**, v. 7, p. 225-232, 2009.

CHANDRASEKHAR, J.; MADHUSUDHAN, M.C.; RAGHAVARAO, K.S.M.S. Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. **Food and bioproducts processing**, v. 9, p. 615-623, 2012.

CHEN, Z.; BERTIN, R.; FROLDI, G. Estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. **Food chemistry**, v. 138, p. 414-420, 2013.

CHIGURUPATI, N.; SAIKI, L.; GAYSER JR., C. Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use. **International journal of pharmaceutics**, v. 241, p. 293-299, 2002.

CIPRIANO, P. A. **Antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) e casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) na formulação de bebidas isotônicas**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

COUTO, A. B.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Aplicação de pigmentos de flores no ensino da química. **Química nova**, v. 21, p. 221-227, 1998.

COSTA, A. E. **Adsorção e Purificação de Corantes Naturais com Sílica Amorfa**. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2005.

DAI, J. *et al.* A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. **Food and chemical toxicology**, v. 47, p. 837-847, 2009.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de fennema**. 4. ed. Artimed, p. 900, 2010.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International journal of food science & technology**, v. 35, p. 5-22, 2000.

EIBOND, L. S. *et al.* Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 23, 2004.

FALCÃO, L. D. Copigmentação intra e intermolecular de antocianinas: uma revisão. **Boletim do CEPPA**, v. 21, p. 351-366, 2003.

FAN, G. *et al.* Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM). **Food science and technology**, v. 41, p. 155-160, 2008.

FAVARO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes**. 2008. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic press, p. 182-205. 1982.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal foods world**, v. 45, p. 208-213, 2000.

FRANCIS, F.J.; MARKAKIS, P.C. Food colorants: anthocyanins. **Critical Reviews in Food science and nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. **Journal of food science**, v. 33, p. 78-83, 1968.

GARCIA-CASTELLO, E.M. *et al.* Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi L.*) solid wastes. **LWT Food science and technology**, v. 64, p. 1114-1122, 2015.

GIUSTI, M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of Anthocyanins by UV visible spectroscopy. In: Wrolstad, R.E. (Ed.). **Current Protocols in Food analytical chemistry**. New York: Editora John Wiley & Sons, 2001.

GOMES, G. C. C. Isopropanol. **Revista virtual de química**, v. 8, p. 2138-2146, 2016.

HASLER, C.M. The changing face of functional foods. **Journal of the american college of nutrition**, v. 19, p. 499S-506S, 2000.

HENTZ, R. **Otimização da extração de antocianinas da casca da jabuticaba (*myrciaria cauliflora*) e avaliação da capacidade antioxidante.** 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, RS, 2015.

IKEDA, K. *et al.* Structure of two aciled anthocyanins from red cabbage (*Brassica oleracea*), **Chemistry express**, v. 2, p. 563-566, 1987.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: **Natural food colorants**, p. 280-296. Glasgow: Blackie academic & professional. 1996.

KARABEY E.; MAZZA, G. Optimisation of antioxidant activity of grape cane extracts using response surface methodology. **Food chemistry**, v. 119, p. 343-348, 2010.

KARPE F.; FRAYN K.N. The nicotinic acid receptor - a new mechanism for an old drug. **Lancet**, v. 363, p. 1892-1894, 2004.

KATO, C. *et al.* Antocianinas de uvas (*vitis vinifera L.*) produzidas em sistema convencional. **Revista brasileira de tecnologia agroindustrial**, v. 06, p. 809-821, 2012.

KONG, J. M. *et al.* Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923-933, 2003.

LAJOLO, F. Alimentos funcionais: aspectos científicos e normativos. **Dieta e saúde**, p. 8, 2002.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of food engineering**, v. 71, p. 214-222, 2005.

LÉDO, F. J. S.; SOUZA, J. A.; SILVA, M. R. Avaliação de cultivares e híbridos de repolho no estado do Acre. **Horticultura brasileira**, v. 18, p. 138-140, 2000.

LEE, H. S.; HONG, V. Chromatographic analysis of anthocyanins. **Journal of chromatography**. v. 624, p. 221-234, 1992.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal AOAC international**, v. 88, p. 1269-1278, 2005.

LIDE, D. R. **Handbook of chemistry and physics**. 76. ed. Florida: Chemical Rubber Company, 1996.

LIMA, A. J. B. *et al.* Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Revista brasileira de fruticultura**, v. 33, p. 877-887, 2011.

LIMA, A. J. B. *et al.* Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora Berg*) e de suas frações. **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 58, p. 416-421, 2008.

LOPES, T. J. *et al.* Antocianinas: Uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista brasileira de agrociência**, v. 13, p. 291-297, 2007.

MALIEN, A.; DANGLES, O.; AMIOT, M. J. Color stability of commercial anthocyanin based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra and intermolecular copigmentation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, p. 170, 2001.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Analytical procedures for identifying anthocyanins in natural extracts. **Química nova**, v. 31, p. 1218-1223, 2008.

MARÇO, P. H.; SCARMINIO, I. S. Q-mode curve resolution of UV-vis spectra for structural transformation studies of anthocyanins in acidic solutions. **Analytica chimica acta**, v. 583, p. 138-146, 2007.

METIVIER, R. P. *et al.* Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. **Journal of food science**. v. 45, p. 1099-1100, 1980.

MORAIS, H. *et al.* Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of chromatography**, v. 770, p. 290-301, 2002.

MOSIER, N. S. *et al.* Characterization of acid catalytic domains for cellulose hydrolysis and glucose degradation. **Biotechnology and bioengineering**. v. 79, p. 610-618, 2002.

NACZK, M; SHAHIDI, F. Extration and analysis of phenolics in food. **Journal of chromatography**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NAKATANI, N. *et al.* Structure of diacyled anthocianins from red cabbage (*Brassica oleracea*). **Chemistry express**, v. 2, p. 555-558, 1987.



OLIVEIRA, D. A. **Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) das variedades merlot e syrah**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2010.

PATIL G. *et al.* Extration, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish. **Chemical engineering and processing: Process intensification**. v. 48, p. 364-369, 2009.

PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. Fontes, reatividade e quantificação de metanol e etanol na atmosfera. **Química nova**. v. 21, p. 744-754, 1998.

PROVENZI, G. Estabilidade de Antocianinas de Uvas Cabernet Sauvignon com  $\beta$ - e  $\gamma$  Ciclodextrinas. **Brazilian journal of food technology**. v. 9, p. 165-170, 2006.

PUGH, E.W.; WINSLOW, G.H. **The analysis of physical measurements**, Addison-wesley, reading, mass., 1966.

RAMOS, L. A. *et al.* Utilização do extrato bruto de frutos de *Solanum Nigrum L.* no ensino de química. **Eclética química**, v. 25, p. 229-240, 2000.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G.; Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, p. 4592, 1998.

REYES, L. F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple-and red-fresh potatoes (*Solanum tuberosum L.*). **Food chemistry**, v. 100, p. 885-894, 2007.

RODRIGUEZ-SAONA L.E.; WROLSTAD R.E. Extration, isolation and purification of anthocyanins, *In*: Wrolstad, R.E. (Ed.). **Current protocols in Food analytical chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001.

RUSSEL, J. B. **Química geral**, 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1994.

SANTOS, R.D.; GIANNINI S.D.; FONSECA F.A.H.; III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da sociedade brasileira de cardiologia. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 77, p. 1-48, 2001.

SASSO, S. A. Z. **Propagação vegetativa de jaboticabeira**. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2009.

SAYAR, S.; ÖZDEMİR, Y. First-derivative spectrophotometric determination of ponceau 4R, sunset yellow and tartrazine in confectionery products. **Food chemistry**, v. 61, p. 367-372, 1998.

SCHWARTZ, S. J.; VON HELBE, J.; GIUSTI, M. M. Corantes. **Química de alimentos de fennema**. 4ª edição, Porto Alegre: Artmed Editora. p. 445-498, 900, 2010.

SHREVE, R.N.; BRINK J., **Indústria de processos químicos**. 4ª edição. Trad. H. Macedo. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, p. 242, 400, 483-484, 544, 689, 1980.

SILVA, E. O. *et al.* Processamento mínimo de repolho. *In*: MORETTI, C. L. **Manual de processamento de frutas e hortaliças**. Embrapa. Brasília, DF. Cap 25, p. 465-482, 2007.

SILVA, M. C. **Aproveitamento do resíduo do despulpamento da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) para obtenção de pigmento com propriedades funcionais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2012.

SILVA, M. P. *et al.* Evaluation of gamma radiation process on the quality of blackberry (*Rubus spp. L.*) pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 620-627, 2014.

SILVA, P. I. **Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)**. 2011. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

SNYDER, C.H. **The extraordinary chemistry of ordinary things**. 2. ed. Nova Iorque: John Wiley & Sons, p. 242-245, 574-575, 1995

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A.; Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista ceres**, v. 55, p. 297-304, 2008.

TERCI, D.B.L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de química, Campinas, 2004.

TODARO, A. *et al.* Recovery of anthocyanins from eggplant peel. **Food chemistry**. v. 114, p. 434-439, 2009.

VALDUGA, E. *et al.* Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva “Isabel” (*Vitis labrusca*). **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, p. 1568-1574, 2008.

## APÊNDICES

**APÊNDICE A – QUANTIDADE DE TMA EXTRAÍDAS DAS CASCAS DA  
JABUTICABA (mg.L<sup>-1</sup>)**

Solvente	Ácido cítrico (mol.kg <sup>-1</sup> )			
	0,0	0,1	0,5	1,0
Água	11,36	14,92	19,65	22,26
Metanol	25,42	32,76	25,51	23,38
Etanol	8,40	11,51	9,21	7,99
Isopropanol	2,43	13,75	2,47	2,76
água + Metanol	30,64	36,40	29,84	27,43
água + Etanol	25,23	32,06	26,46	23,58
água + Isopropanol	14,79	19,65	16,86	15,07
	Ácido Adípico (mol.kg <sup>-1</sup> )			
Água	11,36	14,62	14,55	14,64
Metanol	25,42	31,30	23,38	23,17
Etanol	8,40	10,24	7,82	8,01
Isopropanol	2,43	2,98	2,17	2,10
água + Metanol	30,64	34,55	27,20	27,15
água + Etanol	25,23	30,34	22,37	21,76
água + Isopropanol	14,79	17,74	11,71	11,41
	Ácido Nicotínico (mol.kg <sup>-1</sup> )			
	0,00	0,01	0,03	0,06
Água	11,36	12,50	12,00	11,56
Metanol	25,42	32,41	25,95	25,19
Etanol	8,40	10,54	7,94	7,25
Isopropanol	2,43	2,63	2,43	2,06
água + Metanol	30,64	35,83	30,56	31,50
água + Etanol	25,23	29,87	24,88	25,50
água + Isopropanol	14,79	18,47	14,73	15,06

Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

**APÊNDICE B - QUANTIDADE DE TMA EXTRAÍDAS DO REPOLHO ROXO**  
(mg.L<sup>-1</sup>)

Solvente	Ácido cítrico (mol.kg <sup>-1</sup> )			
	0,0	0,1	0,5	1,0
Água	50,37	51,72	42,35	45,41
Metanol	19,44	45,63	36,81	36,99
Etanol	0,76	10,60	13,35	17,34
Isopropanol	0,77	1,00	3,72	6,86
água + Metanol	41,49	54,29	46,02	41,64
água + Etanol	39,43	51,41	39,11	34,49
água + Isopropanol	34,02	47,33	36,43	34,06
	Ácido Adípico (mol.kg <sup>-1</sup> )			
Água	50,37	48,91	41,70	43,83
Metanol	19,44	39,23	34,37	34,96
Etanol	0,76	3,44	6,40	9,34
Isopropanol	0,77	0,25	0,77	1,12
água + Metanol	41,49	56,80	44,24	37,37
água + Etanol	39,43	53,82	39,47	37,03
água + Isopropanol	34,02	44,65	34,61	32,06
	Ácido Nicotínico (mol.kg <sup>-1</sup> )			
	0,00	0,01	0,03	0,06
Água	50,37	49,87	43,53	41,99
Metanol	19,44	37,19	31,78	32,94
Etanol	0,76	3,45	4,14	5,17
Isopropanol	0,77	0,54	0,30	0,42
água + Metanol	41,49	55,99	44,84	43,95
água + Etanol	39,43	48,60	41,27	42,10
água + Isopropanol	34,02	44,45	37,56	37,33

Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

### APÊNDICE C – VALORES DE pH

#### CASCAS DA JABUTICABA

Solventes	ácido cítrico (mol.kg <sup>-1</sup> )				ácido adípico (mol.kg <sup>-1</sup> )			ácido nicotínico (mol.kg <sup>-1</sup> )		
	0,0	0,1	0,5	1,0	0,1	0,5	1,0	0,01	0,03	0,06
água	7,80	2,15	1,77	1,66	2,98	2,85	2,91	3,40	3,41	3,36
metanol	7,70	2,29	2,02	1,86	3,24	2,70	2,37	3,63	3,61	3,56
etanol	7,83	2,98	2,65	2,16	4,41	3,56	3,39	4,29	3,95	3,86
isopropanol	6,90	2,88	2,21	2,25	4,81	3,96	3,94	4,71	3,55	3,59
água + metanol	7,53	2,71	2,28	2,03	3,42	2,98	2,70	3,58	3,52	3,57
água + etanol	8,22	3,01	2,50	2,16	3,98	3,46	3,10	4,18	3,83	3,62
água + isopropanol	7,44	3,13	2,24	1,95	4,44	3,68	3,43	4,26	3,95	3,80

#### REPOLHO ROXO

Solventes	ácido cítrico (mol.kg <sup>-1</sup> )				ácido adípico (mol.kg <sup>-1</sup> )			ácido nicotínico (mol.kg <sup>-1</sup> )		
	0,0	0,1	0,5	1,0	0,1	0,5	1,0	0,01	0,03	0,06
água	7,24	2,20	1,87	1,74	2,65	2,56	2,69	3,61	3,36	3,34
metanol	7,79	2,25	1,93	1,85	3,34	2,72	2,43	3,90	3,70	3,60
etanol	7,88	2,94	2,51	2,35	4,56	3,78	3,57	4,06	3,80	3,60
isopropanol	6,58	3,43	2,94	2,73	4,38	4,10	4,09	4,30	4,20	3,98
água + metanol	7,00	2,97	2,38	2,11	3,61	2,95	2,79	3,61	3,51	3,47
água + etanol	7,66	3,02	2,52	2,22	4,00	3,30	3,06	4,12	3,79	3,67
água + isopropanol	7,81	3,32	2,58	2,30	4,50	3,86	3,58	4,13	4,04	3,92

Fonte: Elaborada pela autora, 2019.