

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VALÉRIA MARIA COSTA TEIXEIRA

**OTIMIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE CORANTES NATURAIS
USANDO PLANEJAMENTO DE MISTURAS**

CAMPO MOURÃO

2021

VALÉRIA MARIA COSTA TEIXEIRA

**OTIMIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE CORANTES NATURAIS USANDO
PLANEJAMENTO DE MISTURAS**

Natural Colorant Composition Optimization Using Mixture Design

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Profa. Dra. Fernanda Vitória Leimann

Coorientador: Prof. Dr. Evandro Bona

CAMPO MOURÃO

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



VALÉRIA MARIA COSTA
TEIXEIRA

OTIMIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE CORANTES NATURAIS USANDO PLANEJAMENTO DE MISTURAS

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia de Alimentos.

Data de aprovação: 28/06/2021

Membro 1 Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior

Membro 2 Profa. Dra. Cristiane Costa Bresolin

Membro 3 Prof. Dr. Evandro Bona

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em

https://utfws.utfpr.edu.br/acad03/sistema/mpCadDefQualPg.pcTelaAssinaturaDoc?p_pesscodnr=211547&p_cadedocpescodnr=974&p_cadedoccodnr...

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Dra. Fernanda Vitória Leimann por toda paciência e disponibilidade que sempre teve comigo, e por todos os conhecimentos que ela me proporcionou ao longo do acompanhamento.

Ao meu coorientador Dr. Evandro Bona que sempre foi muito solícito em todos os meus questionamentos.

Também agradeço a minha família pelo apoio e amparo em todos os momentos, em especial ao meu marido Allisson Diego que me prestou todo suporte necessário para que eu conseguisse desenvolver minha pesquisa.

Não posso deixar de agradecer às minhas queridas colegas de Mestrado que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do presente estudo, meu muito obrigada Talita, Regiane, Luciana, Janmile, Anielle, Thaysa e Viviane.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação de Tecnologia em Alimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) (Código de Financiamento 001) pelo apoio financeiro.

RESUMO

Os corantes artificiais são uma categoria de aditivos sem valor nutritivo, introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos. A substituição dos corantes artificiais pelos naturais é tendência no mercado, pois além de atuar como corante, essas substâncias naturais também possuem propriedades bioativas. No presente trabalho objetivou-se determinar a composição de misturas de corantes naturais compostas por curcumina nanoencapsulada (coloração amarela), extrato de hibisco (coloração vermelha) e extrato de espirulina (coloração verde-azulada) com menor diferença de cor (ΔE^*) com relação a corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, tartrazina e vermelho morango). Os dados de cor (a^* , b^* e L^*) otimizados a partir de um planejamento de misturas ternárias aplicado aos corantes naturais, foram comparados aos dados obtidos para os corantes artificiais, por meio da diferença de cor (ΔE^*). Todos os corantes artificiais bem como as misturas foram aplicados em dois meios simulados (tampão citrato pH 3,0 e tampão fosfato pH 6,9), bem como em iogurte natural (pH 4,0). Para cada meio e cada corante artificial foi obtido um modelo matemático para descrever a diferença de cor entre a mistura de corantes naturais/corante artificial. Todos os modelos matemáticos foram capazes de descrever os dados experimentais, com exceção do modelo para o corante vermelho morango aplicado em tampão citrato. De forma geral, os fatores que mais influenciaram os modelos de forma significativa foram os componentes puros curcumina encapsulada e extrato de hibisco, além da interação binária destes dois componentes que levou a uma aproximação da mistura à cor determinada para os corantes artificiais. Os maiores valores de coeficiente de determinação foram obtidos para os modelos de todos os corantes aplicados em iogurte (R^2 e $R^2_{ajustado} > 99,9$). Os resultados obtidos com os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) de todas as amostras avaliadas no planejamento de mistura e os corantes artificiais em todos os meios (tampões citrato, fosfato e iogurte) foram submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA), resultando na formação de 3 grupos de amostras. A otimização realizada para minimização da diferença de cor não teve sucesso na validação experimental, principalmente pela alteração da matéria prima de obtenção do extrato de hibisco, sendo diferentes fontes utilizadas na preparação dos modelos experimentais e na validação. Contudo, este ainda possui capacidade corante e maior benefício à saúde dos consumidos quando utilizado em substituição aos corantes artificiais.

Palavras-chave: Curcumina nanoencapsulada; extrato de hibisco; extrato de espirulina; diferença de cor.

ABSTRACT

Artificial dyes are a category of additives with no nutritional value, introduced in foods and beverages with the sole purpose of giving them color, making them more attractive. The substitution of artificial colors by natural ones is a trend in the market because, in addition to acting as a dye, these natural substances also have bioactive properties. The present study aimed to determine the composition of mixtures of natural dyes composed of nanoencapsulated curcumin (yellow color), hibiscus extract (red color), and spirulina extract (blue-green color) with less color difference (ΔE^*) compared to artificial colors (yolk yellow, apricot yellow, tartrazine, and strawberry red). The color data (a^* , b^* , and L^*) obtained from a ternary mixture design applied to natural dyes, were compared to the data obtained for the artificial dyes, through the color difference (ΔE^*). All artificial colors and mixtures were applied in two simulated mediums (citrate buffer pH 3 and phosphate buffer pH 6.9), as well as in natural yogurt (pH 4.0). For each medium and each artificial dye, a mathematical model was obtained to describe the color difference between the natural dye and artificial dye mixture. All mathematical models were able to describe the experimental data, except for the model for the strawberry red dye applied in citrate buffer. In general, the factors that most influenced the models significantly were the pure encapsulated curcumin and hibiscus extract, in addition to the binary interaction of these two components that led to an approximation of the mixture to the color determined for artificial dyes. The highest values of the determination coefficient were obtained for the models of all dyes applied in yogurt (R^2 and R^2 adjusted > 99.9). The results obtained with the color parameters (L^* , a^* , b^* , C^* and h°) of all samples evaluated in the mixture planning and artificial colors in all mediums (citrate and phosphate buffers, and yogurt) were submitted to Principal Component Analysis (PCA), resulting in the formation of 3 groups of samples. The optimization carried out to minimize the color difference was not successful in the experimental validation, mainly due to the alteration of the raw material for obtaining the hibiscus extract, with different sources used in the preparation of the experimental models and in the validation. However, it still has coloring capacity and greater health benefit to consumers when used in substitution to artificial colors.

Key-words: Nanoencapsulated curcumin; hibiscus extract; spirulina extract; color difference.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular dos pigmentos curcuminóides presentes na <i>Curcuma longa</i> .	20
Figura 2 - Estrutura química da ficocianina.....	24
Figura 3 - Estrutura química das antocianinas.....	26
Figura 4 - Representação do espaço CIELAB.....	28
Figura 5 - Diferença de cor entre duas amostras de maçã.....	28
Figura 6 - Planejamento de misturas com restrição de máximo para espirulina.....	32
Figura 7 - Corantes aplicados no tampão fosfato (pH 6,9): A - Corantes artificiais (VM – Vermelho morango; T – Tartrazina; AG – Amarelo gema; e AD – Amarelo damasco) e B - Corantes naturais (vide Tabela 7).....	42
Figura 8 - Corantes aplicados no tampão citrato (pH 3,0): A - Corantes artificiais (VM – Vermelho morango; T – Tartrazina; AG – Amarelo gema; e AD – Amarelo damasco) e B - Corantes naturais (vide Tabela 7).....	44
Figura 9 - Corantes aplicados no Iogurte (pH 4,0): A - Corantes artificiais (VM – Vermelho morango; T – Tartrazina; AG – Amarelo gema; e AD – Amarelo damasco) e B - Corantes naturais (vide Tabela 7).	47
Figura 10 - Variância explicada dos dados experimentais de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) de todas as amostras avaliadas no planejamento de mistura, bem como dos corantes artificiais em todos os meios (tampões citrato, fosfato e iogurte).	48
Figura 11 - Biplot dos dados de cor das misturas e dos corantes artificiais para os 3 pHs avaliados. Amostras representadas pelo código que equivale: ponto experimental-pH do meio (exemplo 4.pH6.9- mistura do ponto experimental 4 aplicado em pH 6,9).....	49
Figura 12 - Loadings da análise de componentes principais dos dados de cor.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Fontes de corantes naturais e principais classes de compostos presentes nos extratos que apresentam coloração.....	18
Tabela 2- Alimentos onde a curcumina tem sido aplicada com objetivo de ação antimicrobiana/corante e técnicas utilizadas para garantir sua aplicação.....	21
Tabela 3- Alimentos com aplicação de extrato de espirulina e <i>S. platensis</i> em sua forma integral.....	24
Tabela 4- Alimentos em que o hibisco tem sido aplicado na forma de extrato.....	26
Tabela 5- Matriz experimental do planejamento de mistura com restrição de máximo para o extrato de espirulina.....	31
Tabela 6- Formulações usadas para preparação dos meios contendo corantes artificiais (corantes amarelo gema e vermelho morango possuem apresentação líquida; corantes amarelo damasco e tartrazina possuem apresentação sólida).....	33
Tabela 7- Valores de ΔE^* em relação aos corantes artificiais em diferentes valores de pH. *Proporção dos componentes na mistura (X_1 -Curcumina encapsulada/ X_2 -Extrato de hibisco/ X_3 -extrato de espirulina).....	36
Tabela 8- Coeficientes dos modelos para o ΔE para diferentes cores e valores de pH (p-valor dos coeficientes entre parêntesis).	40
Tabela 9 - Otimização e validação experimental das composições de mistura para minimização do ΔE^* com relação aos corantes artificiais.	51

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

Y- Diferença de cor (ΔE^*);

C- Curcumina encapsulada (X_1);

H- Extrato de hibisco (X_2);

S- Extrato de espirulina (X_3);

b_1 - coeficiente de regressão do componente *C* puro;

b_2 - coeficiente de regressão do componente *H* puro;

b_3 - coeficiente de regressão do componente *S* puro;

b_{12} - coeficiente de regressão de interação binária dos componentes *C* e *H*;

b_{13} - coeficiente de regressão de interação binária dos componentes *C* e *S*;

b_{23} - coeficiente de regressão de interação binária dos componentes *H* e *S*;

b_{123} - coeficiente de regressão de interação ternária dos componentes *C*, *H* e *S*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Aditivos alimentares	16
3.2 Corantes artificiais	16
3.3 Corantes naturais	17
3.3.1 Curcumina.....	20
3.3.2 Espirulina.....	23
3.3.3 Hibisco.....	25
3.4 Substituição dos corantes artificiais pelos corantes naturais	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1 Materiais	30
4.2 Encapsulação da curcumina e obtenção dos extratos	30
4.3 Planejamento de mistura e coleta dos dados de cor	31
4.4 Coleta de dados dos corantes artificiais	32
4.5 Modelagem matemática da diferença de cor	33
4.6 Análise de componentes principais	34
4.7 Otimização e validação experimental da composição das misturas	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÕES	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
APÊNDICE A - Resultados determinados para os parâmetros de cor dos corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina) no meio tampão fosfato (pH = 6,9) e diferença de cor calculada com os dados do planejamento experimental simplex-centroide realizados por Silva (2019).....	62
APÊNDICE B - Resultados determinados para os parâmetros de cor dos corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina) no meio tampão citrato (pH = 3,0) e diferença de cor calculada com os dados do planejamento experimental simplex-centroide realizados por Silva (2019).....	64
APÊNDICE C - Resultados determinados para os parâmetros de cor dos corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina) no meio iogurte (pH = 4,0) e diferença de cor calculada com os dados do planejamento experimental simplex-centroide realizados por Silva (2019).....	66
APÊNDICE D - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo gema e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato (pH 6,9).....	68
APÊNDICE E - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial vermelho morango e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato.....	68

APÊNDICE F - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo damasco e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato.....	68
APÊNDICE G - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial tartrazina e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato.....	69
APÊNDICE H - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo gema e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.....	69
APÊNDICE I - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial vermelho morango e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.....	70
APÊNDICE J - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo damasco e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.....	70
APÊNDICE K - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial tartrazina e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.....	70
APÊNDICE L - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo gema e as misturas de corantes naturais em iogurte.....	71
APÊNDICE M - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever o (ΔE^*) entre o corante artificial vermelho morango e as misturas de corantes naturais em iogurte.....	71
APÊNDICE N - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo damasco e as misturas de corantes naturais em iogurte.....	72
APÊNDICE O - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante tartrazina e as misturas de corantes naturais em iogurte.....	72

1 INTRODUÇÃO

A cor sempre fez parte da vida das pessoas, acarretando, nos alimentos, melhor aceitabilidade, pois melhora as características sensoriais dos produtos. Dessa forma, é comum os indivíduos escolherem seus alimentos pela cor (SANTO et al., 2013).

Assim, a manutenção da cor natural do alimento é um fator fundamental para a aceitação do produto, em uma primeira avaliação do consumidor. Em geral, a importância da aparência do produto para sua aceitabilidade é a maior justificativa para o emprego de corantes (PRADO; GODOY, 2007a).

Os corantes artificiais são uma categoria de aditivos sem valor nutritivo, introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos. Por esse motivo, do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais em geral não são recomendados. Mesmo assim, os corantes são amplamente utilizados nos alimentos e bebidas devido à sua grande importância no aumento da aceitação dos produtos (PRADO; GODOY, 2007b). Todavia, esses aditivos alimentares quando ingeridos, podem ser convertidos em derivados nocivos para o corpo humano.

Diversos pesquisadores afirmam que a ingestão de corantes artificiais pode estar associada a efeitos maléficos para a saúde, como alergia (MARTINS, N.; RORIZ, C. L.; MORALES, P.; BARROS, L.; FERREIRA, 2016), hiperatividade e déficit de atenção principalmente em crianças (KHRALLA; SALEM; EL-MALKY, 2015); (MASONE; CHANFORAN, 2015), propriedades pró-inflamatória (LEO et al., 2018).

A substituição dos corantes artificiais pelos naturais é tendência no mercado, pois além de atuar como corante, essas substâncias naturais também podem apresentar propriedades que auxiliam na prevenção de doenças cardiovasculares e neurológicas, propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (VIANA et al., 2019).

Segundo a Resolução CNNPA nº 44, de (ANVISA, 1977) da ANVISA, corante orgânico natural é aquele obtido a partir de vegetal, ou eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido isolado com o emprego de processo tecnológico adequado (PRADO; GODOY, 2007a). Já o corante artificial é a substância obtida por processo de síntese com

composição química definida. Neste contexto é essencial o desenvolvimento de novas pesquisas para otimizar e adequar novas opções de produtos naturais, visando a extração de substâncias com potencial corante com propósito de substituição dos corantes artificiais. Dentre os produtos naturais que apresentam substâncias que podem ser usadas como corantes tem-se a curcumina, o extrato de espirulina e o extrato de hibisco.

A curcumina é extraída do rizoma do *Curcuma longa* L. conhecido popularmente como açafrão da Índia. Essa substância apresenta uma cor amarelo-esverdeado em solução e é utilizada em cosméticos, medicamentos, têxteis e alimentos, devido suas atividades farmacológicas anti-inflamatórias, antiviral, antibacteriano, antioxidante, antifúngica, anticarcinogênica, entre outras ações terapêuticas (GONÇALVES; LOFRANO, 2018). O *Hibiscus sabdariffa* L. conhecido como hibisco, possui propriedades antioxidantes e antimicrobianas, que favorecem seu uso para fins medicinais e alimentares. Suas flores são fonte de antocianinas que são solúveis em água, mas apresentam variação em sua coloração de acordo com o pH do meio, em meios ácidos apresentam coloração vermelha e meios alcalinos coloração azul (MA et al., 2012). Outra fonte de corante natural é a alga verde azulada de forma helicoidal, popularmente conhecida como Espirulina. Nos países desenvolvidos, esta cianobactéria vem sendo utilizada como ração animal e complemento alimentar vendido na forma de cápsulas e tabletes; também é usada na indústria cosmética e na alimentícia, neste caso, principalmente por ser fonte de ficocianina, um corante azul natural (OLIVEIRA et al., 2013). Este carotenoide extraído de microalgas já vem sendo aplicado comercialmente como corante natural, antioxidante, pró-vitamina A. Além dos carotenoides e das clorofilas, outros pigmentos acessórios, como as ficobiliproteínas, a ficoeritrina (vermelho) e a ficocianina (azul), têm sido empregados como corantes na indústria cosmética e alimentícia e em ensaios imunológicos (DERNER et al., 2006).

Sabendo que misturas de corantes com tonalidades diferentes resultam em cores distintas, espera-se que a utilização da curcumina (coloração amarela), do extrato de hibisco (coloração vermelha) e do extrato de espirulina (coloração verde-azulada) em conjunto, permita a produção de um espectro de cores a partir destes compostos naturais. O planejamento experimental de misturas permite que em proporções diferentes dos componentes sejam determinadas equações experimentais como modelos preditivos para as respostas desejadas, como no caso dos corantes, os parâmetros de luminosidade (L^*), coloração de vermelho a verde (a^*) e amarelo a azul (b^*), além dos parâmetros de cromaticidade (C^*) e ângulo de hue ($^{\circ}h$).

No delineamento para a definição de uma mistura experimental, a quantidade total dos componentes é mantida constante, sendo que a resposta depende das proporções relativas dos componentes (ingredientes) na mistura e não da quantidade da mistura (RAO; BARAL, 2011). Na criação de misturas, a utilização de planejamentos tais como o *Simplex-Centróide*, permite investigar os efeitos sinérgicos ou antagonistas dos componentes da mistura nas variáveis de resposta (HANDA et al., 2016).

Assim, no presente trabalho objetivou-se otimizar e validar a composição de misturas ternárias compostas por curcumina e extratos de espirulina e hibisco, em função da menor diferença de cor com corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina). Para alcançar tal objetivo, foi necessário nanoencapsular a curcumina, devido ao seu caráter hidrofóbico, uma vez que em sua forma original não apresenta afinidade com os extratos de hibisco e espirulina, impedindo a mistura dos três componentes em meios aquosos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Otimizar e validar a mistura de corantes naturais composta de curcumina nanoencapsulada, extrato de hibisco e extrato de espirulina, em função da menor diferença de cor com relação a corantes artificiais comerciais, por metodologia de superfície de resposta.

2.2 Objetivos Específicos

- Nanoencapsular a curcumina por dispersão sólida;
- Obter os extratos de hibisco e espirulina utilizando água como solvente;
- Definir a quantidade máxima de corantes naturais possível de ser aplicada no planejamento experimental;
- Aplicar os extratos propostos pelo planejamento de misturas ternárias em tampão fosfato (pH 6,9), tampão citrato (pH 3,0) e iogurte batido natural (pH 4,0); e determinar os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*);
- Aplicar os corantes artificiais nos mesmos meios testados para os corantes naturais e determinar os respectivos parâmetros de cor;
- Determinar os modelos empíricos para a diferença de cor (ΔE^*) da mistura de corantes naturais com relação aos corantes artificiais em cada meio aplicado (tampões fosfato, citrato e iogurte);
- Otimizar os valores de ΔE^* dos modelos que apresentem possibilidade de previsão utilizando a metodologia de superfície de resposta;
- Validar os pontos experimentais otimizados com base no ΔE^* com relação aos corantes artificiais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aditivos Alimentares

De acordo com Codex Alimentarius (2019), a primeira coleção internacional de padrões e diretrizes alimentares, “aditivo alimentar” é uma substância que, normalmente, não é consumida como alimento por si só ou usada como ingrediente, dotada ou não de valor nutritivo, e que é adicionada ao alimento com um propósito tecnológico (e sensorial) na sua fabricação, processamento, acondicionamento, transporte ou armazenamento, para promover possíveis alterações, direta ou indiretamente, afetando características do alimento. Este termo não inclui contaminantes ou substâncias adicionadas com o propósito de melhorar a qualidade nutricional do alimento. Os aditivos alimentares podem ser classificados como conservantes, antioxidantes, emulsificantes, estabilizantes, aromatizantes, edulcorantes e corantes (FEKETEÁ; TSABOURI, 2017).

Existem duas classes diferentes de corantes disponíveis para uso alimentar: os artificiais e os naturais. Os artificiais são sintetizados por via química e os naturais são extraídos de substâncias vegetais ou animais (ALMEIDA et al., 2018). No Brasil, segundo a Resolução nº 387, de 05/8/1999, imposta pela ANVISA, permite-se o uso de onze corantes artificiais em produtos alimentícios: Amarelo Tartrazina (CI 19140), Amarelo Crepúsculo (CI 15985), Amarantho (CI 16185), Ponceau 4R (CI 16255), Eritrosina (CI 45430), Vermelho 40 (CI 16035), Azul Indigotina (CI 73015), Azul Brilhante FCF (CI 42090), Azul Patente V (CI 42051), Azorrubina (CI 14720) e Verde Rápido (CI 42053), isto ocorreu devido à necessidade de harmonização da legislação entre os países membros do MERCOSUL para uso de corantes em alimentos (ANVISA, 1999).

3.2 Corantes Artificiais

Em geral, os corantes artificiais podem ser classificados em frações hidrossolúveis e lipossolúveis com base em sua solubilidade. A maioria de corantes lipossolúveis e seus metabólitos apresentam efeitos cancerígenos, teratogênicos e mutagênicos (TANG et al., 2014). Estudos realizados por McCann et al. (2007) indicaram que o consumo de corantes artificiais provoca hiperatividade em crianças, podendo causar impulsividade e desatenção, prejudicando

seu aprendizado, principalmente na escola. Conforme Schumann; Polônio; De Andrade Gonçalves (2008), as crianças pertencem ao grupo mais vulnerável às reações adversas dos aditivos alimentares, pois pesam menos que um adulto e não têm controle da ingestão alimentar rica em aditivos. Os corantes que contêm um grupo azo (-N = N-) são os mais usados na indústria alimentícia, incluindo amarelo crepúsculo, o vermelho bordeaux, e o amarelo tartrazina.

A tartrazina é o mais alérgico de todos os azocorantes utilizados na indústria alimentícia, principalmente entre asmáticos e intolerantes ao ácido acetilsalicílico. Relatos o apontam como possível catalisador da hiperatividade e outros problemas comportamentais em crianças (SAHNOUN et al., 2018). O corante tartrazina está presente em muitos alimentos como doces, cereais, geleias, laticínios, sorvetes, recheios, licores, sucos em pó, refrigerantes, iogurtes e gelatinas (GOMES et al., 2013).

Esses azocorantes podem ser insolúveis ou solúveis em água e ser reduzidos pelas bactérias intestinais (FENG, J.; CERNIGLIA, C. E.; CHEN, 2018a), assim que entram em contato com o nosso trato gastrointestinal que abriga uma microbiota diversificada. Mesmo que alguns desses corantes primários não apresentem um potencial cancerígeno e/ou mutagênico, alguns de seus metabólitos gerados após a sua degradação por atividade de azoredutases, que são comumente produzidas por bactérias entéricas, apresentam toxicidade e/ou carcinogenicidade para os seres humanos (CHUNG; FULK; EGAN, 1978; ELHKIM et al., 2007)(FENG, J.; CERNIGLIA, C. E.; CHEN, 2018).

Vários estudos têm buscado apresentar alternativas para substituir o uso de corantes artificiais por corantes naturais. Existe uma diversidade de produtos naturais que apresentam compostos com características corantes proporcionando um espectro de cores próximo aos obtidos de forma sintética. Porém, a instabilidade e insolubilidade de alguns desses compostos tornam o seu uso dificultoso.

3.3 Corantes Naturais

A utilização de corantes naturais, além de atribuir cor aos alimentos, também garante propriedades benéficas à saúde humana, ou seja, estes possuem características funcionais, como por exemplo, antioxidantes e anti-inflamatórias (SOUZA, 2012).

A legislação brasileira permite o uso dos seguintes corantes naturais: ácido carmínico, antocianinas, carmim, carotenoides (alfa-caroteno, beta-caroteno, gama-caroteno,) carotenos naturais (alfa, beta e gama), clorofila, clorofila cúprica, cochonilha, cúrcuma, curcumina, páprica, riboflavina, bixina, norbixina, vermelho de beterraba, betanina, luteína, clorofilina cúprica caramelo I simples, caramelo II processo sufite caustico, caramelo III processo amônia, caramelo IV processo sulfite amônia, capsorubina, capsantina, licopeno, beta-apo-8' carotenal, éster etílico ou metílico do ácido beta-apo-8'carotenóico, dióxido de titânio (ANVISA, 1999). Os principais corantes naturais de aplicação na indústria de alimentos são: as antocianinas, a clorofila, a riboflavina, as betalaínas, os flavonoides, caramelos e os carotenoides (MOREIRA et al., 2014).

As plantas são fontes de pigmentos naturais que são explorados para o uso em corantes alimentícios, pois apresentam vários compostos bioativos que conferem atividades antioxidantes e antimicrobianas. Na Tabela 1 são apresentadas fontes de corantes naturais e seus principais compostos que conferem cor.

Tabela 1- Fontes de corantes naturais e principais classes de compostos presentes nos extratos que apresentam coloração.

Fonte de extração	Principais compostos com característica colorante	Referência
Cenoura negra (<i>Daucus carota</i> ssp. sativus var. atrorubens)	Antocianinas	(GULDIKEN; BOYACIOGLU; CAPANOGLU, 2016)
Perpétua roxa (<i>Gomphrena globosa</i> L.)	Betacianidinas (classe das betalaínas com pigmentação vermelha- -roxo)	(RORIZ et al., 2017)
Uva Isabel (<i>Vitis vinifera</i>)	Antocianidinas e antocianinas	(OLIVEIRA FILHO, 2017)
Casca de gogoia (<i>Tacinga inamoena</i>)	Betalainas, carotenoides	(JÚNIOR, 2018)
Caju	Polifenóis e carotenoides	(RÊGO et al., 2015)
Repolho roxo (<i>Brassica oleracea</i>)	Antocianinas	(ARAÚJO, 2018)
<i>Curcuma longa</i>	Curcuminoides	(SANTOS, 2018)
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Compostos fenólicos, compostos polares, antocianinas e flavonoides	(PIMENTEL-MORAL et al., 2018)
<i>Spirulina platensis</i>	Ficocianina	(ÍLTER et al., 2018)
Urucum	Bixina	Trombete (2020)

Amora silvestre (<i>Rubus ulmifolius</i>)	Antocianina	(DA SILVA, 2018)
--	-------------	------------------

Fonte: Autoria própria (2020).

Dentre esses compostos, as antocianinas emergem como moléculas promissoras (MARTINS, N.; RORIZ, C. L.; MORALES, P.; BARROS, L.; FERREIRA, 2016). As betalainas existentes na beterraba possuem ação antioxidante. Desta forma, pesquisas têm surgido para melhorar a estabilidade dos corantes naturais e também para diversificar as tonalidades de suas colorações (OTÁLORA et al., 2015). Legumes (beterraba), grãos (soja preta), raízes (rabanete) e tubérculos (batata-doce roxa) de cor azul avermelhada e arroxeada são os vegetais comestíveis que contêm um alto nível de antocianinas (PETROPOULOS et al., 2019).

O *Hibiscus sabdariffa* é uma planta herbácea, cultivada em grande parte em áreas tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios. Seus cálices (consumidos em grandes quantidades na África e na Ásia como uma bebida após maceração em água) contêm grandes quantidades de antocianinas (SINELA et al., 2017).

As betacianinas são muito similares às antocianinas, e incluem compostos com cores que vão do vermelho-violeta (betacianidinas) ao amarelo-laranja (beta-xantinas) (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2015). Para além da sua relevância como corantes, as betacianidinas desempenham um papel importante na saúde, pois lhe são atribuídas atividades farmacológicas relacionadas com propriedades antioxidantes, antilipidêmicas e antimicrobianas (GENGATHARAN; DYKES; CHOO, 2015). A única betalaina autorizada como corante natural deriva da beterraba (E-162) e é aplicada em produtos lácteos e cárneos, entre outros (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2015).

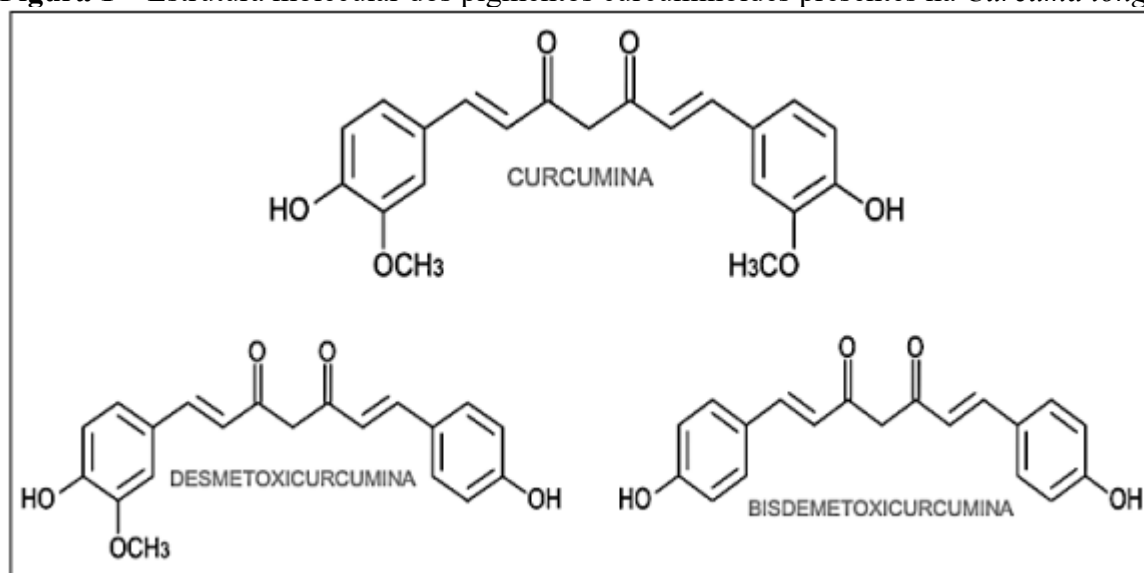
A cúrcuma (*Curcuma longa* L.), denominada popularmente como açafrão-da-terra, turmérico, raiz-de-sol, açafrão-da-índia e gengibre amarelo (SANTOS, 2018b) possui compostos curcuminoides como a curcumina, a demetoxicurcumina e a bis-demetoxicurcumina, que são responsáveis pela pigmentação dos rizomas, tendo a curcumina como principal substância ativa (60 a 76%) (MARCHI et al., 2016). Estes compostos fenólicos de coloração amarela alaranjada, possuem diversas bioatividades, sendo de interesse das indústrias de alimentos e farmacêutica (DE SÁ, 2019).

A *Spirulina platensis*, também conhecida como espirulina, é uma cianobactéria procariótica filamentosa azul esverdeada (DA SILVA et al., 2019). A espirulina apresenta um alto teor de pigmentos, como beta-caroteno, tocoferóis, ficocianina, fitoeritrina e clorofilas (PRIYADARSHANI; RATH, 2012).

3.3.1 Curcumina

A curcumina é o componente majoritário dos rizomas de *Curcuma longa* L., sendo responsável por cerca de 2% do peso seco dos rizomas. Atualmente a curcumina pode ser adquirida comercialmente como uma mistura de três componentes: curcumina (CUR, ~77%); desmetoxicurcumina (DMC, ~17%); e bisdesmetoxicurcumina (BDMC, ~3%) (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008a). A presença do radical metoxila (OCH₃) na estrutura química resulta na diferença da quantidade dos três compostos (Figura 1). O anel benzênico ligado a um ou mais grupamentos hidroxilas (-OH) caracteriza a capacidade antioxidante da curcumina (PANDEY; RIZVI, 2009).

Figura 1 – Estrutura molecular dos pigmentos curcuminóides presentes na *Curcuma longa*.



Fonte: Banik et al. (2017).

Diversos estudos têm comprovado sua baixa toxicidade intrínseca e grande variedade de efeitos terapêuticos como a sua atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, propriedades antitumorais, atividade hepato e nefro protetora; efeito sobre células imunitárias

(linfócitos T, linfócitos B, macrófagos, células dendríticas e outras) atividade contra o Alzheimer e a AIDS (AK; GÜLÇİN, 2008; ANDERSON, 2003; ANITHA et al., 2011; GILDA et al., 2010; GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008b; HATCHER et al., 2008; MAHESHWARI et al., 2006; PARI; TEWAS; ECKEL, 2008).

De acordo com estudos realizados por Garcea et al. (2005) e Park e Contreas (2010), a curcumina apresenta efeitos benéficos na prevenção do câncer de cólon, inibindo o maior número de vias de sinalização, transdução e transcrição, tendo como potente efeito no câncer, a ação antiproliferativa, apoptótica, antiangiogênica e antimetastática, agindo de forma semelhante aos mecanismos dos agentes quimioterápicos, mas sem prejudicar as células normais.

Porém, sua aplicação clínica é limitada devido à sua baixa solubilidade em água, (SUN et al., 2014), o que tem sido solucionado com diversas formas de encapsulação ou modificação de sua microestrutura, podendo então ser incorporada em uma maior gama de produtos alimentícios. Na Tabela 2 são apresentadas algumas técnicas utilizadas para possibilitar a aplicação da curcumina em diferentes alimentos, com função corante e antimicrobiana.

Tabela 2- Alimentos onde a curcumina tem sido aplicada com objetivo de ação antimicrobiana/corante e técnicas utilizadas para garantir sua aplicação.

Alimento	Processamento (nanoencapsulada, emulsionada, pura, etc)	Referência
Iogurte	Nanoencapsulada em PVP	(ALMEIDA et al., 2018)
Ostras (<i>Crassostrea gigas</i>)	Pura impregnada a vácuo	(CARGNIN, 2017)
Mortadela	Microcristalizada	(JÚNIOR et al., 2019)
Cenoura minimamente processada	Microcristalizada	(SILVA et al., 2017)
Gelatina	Nanoencapsulada em PVP	(FERRO, 2015)
Sorvete de massa	Encapsulada em nanoemulsões	(BORRIN et al., 2018)
Amido de milho	Encapsulada em lipossomas liofilizadas	(FERREIRA et al., 2018).

Fonte: Autoria própria (2020).

A encapsulação de curcumina em nanopartículas pode aumentar sua biodisponibilidade, tornando-a uma ótima ferramenta para liberação controlada e direcionamento de compostos bioativos (MOZAFARI, M. R.; FLANAGAN, J.; MATIA-MERINO, L.; AWATI, A.; OMRI, A.; SUNTRES, Z.; SINGH, 2007; PISOSCHI et al., 2018). Além disso, o aumento da sua

solubilidade em água é garantido em função do material encapsulante aplicado (LEIMANN et al., 2019).

Um método muito utilizado para a obtenção de curcumina nanoencapsulada é a dispersão sólida utilizando polivinilpirrolidona (PVP) como encapsulante (KAEWNOPPARAT et al., 2009)(KAEWNOPPARAT et al., 2009; KHAN; RATHOD, 2014; KUMAVAT et al., 2013; YEN et al., 2010).

Essa técnica mostra-se de grande importância para a indústria alimentícia, pois confere baixo custo se comparado com os processos supercríticos, e utiliza compostos de baixa toxicidade utilizando o etanol como solvente (THORAT; DALVI, 2014).

De acordo com Silva et al. (2017) o uso de microcristais de curcumina como agentes antimicrobianos é promissor, pois apresenta baixo custo e podem ser obtidos na ausência de surfactantes ou estabilizantes, reduzindo a quantidade de aditivos que devem ser adicionados ao alimento.

Outra forma de obter a curcumina em alimentos é a impregnação a vácuo (IV), essa técnica consiste na remoção do gás e do líquido dentro dos poros sob condições de vácuo e, em seguida, substituindo-os por soluções sob pressão atmosférica restaurada. Crioprotetores, antioxidantes, bioconservantes, enzimas e probióticos são compostos que podem ser impregnados através desse processo (ZHAO et al., 2019). Uma das grandes vantagens da impregnação a vácuo é possibilitar a inclusão de componentes dissolvidos em uma fase líquida na matriz porosa de um alimento, permitindo assim, modificar a composição deste de maneira rápida e controlada (SALVATORI et al., 1998). Neste caso a curcumina é incorporada em sua forma pura. Compostos ativos podem ser adicionados nos alimentos porosos por um processo simples de difusão, porém na impregnação a vácuo essa transferência de massa é acelerada (LAURINDO et al., 2007).

A encapsulação da curcumina também pode ser feita em lipossomas, que podem auxiliá-la no aumento da estabilidade, e possibilitam a dispersão em meio aquoso (GHALANDARLAKI; ALIZADEH; ASHKANI-ESFAHANI, 2014).

3.3.2 Espirulina

De acordo com Lupatini Menegotto et al. (2019) a *Spirulina platensis*, pode ser um componente valioso para adicionar nos alimentos devido suas propriedades nutricionais e aplicabilidade como suplemento alimentar. Além disso, a espirulina foi reconhecida por ter uma ampla variedade de nutrientes essenciais, incluindo ácidos graxos e polissacarídeos essenciais, vitaminas, minerais e carotenoides (DOREAU; BAUCHART; CHILLIARD, 2011; GÜROY et al., 2012), além de compostos antioxidantes (COLLA et al., 2007). Essa microalga é classificada como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*), o que garante seu uso como alimento sem riscos à saúde.

Na composição destas microalgas estão inclusas vitaminas do complexo B, minerais, proteínas de alta qualidade, antioxidantes beta-caroteno e vitamina E. A presença de ácidos graxos poli-insaturados, especialmente o ácido gama linolênico é variável para as duas espécies (*S. platensis* e *S. máxima*), sendo que a determinação destes é uma das formas de caracterização e identificação das espécies, como relatado por Colla; Bertolin; Costa (2004). A presença ou não destes compostos, além da presença dos antioxidantes e vitaminas, permite que a microalga seja utilizada também para fins terapêuticos.

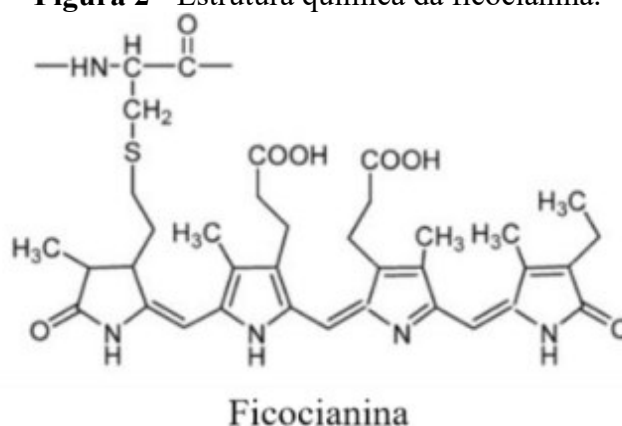
A habilidade da *Spirulina* spp. em combater vírus, desnutrição, diabetes, hipercolesterolemia e outros, além de proporcionar melhorias na saúde como um todo, destaca sua utilização como nutracêutico e desperta o interesse no seu emprego como uma fonte farmacêutica em potencial. Ainda, a espirulina pode auxiliar na prevenção de câncer, pois tem em sua composição o precursor da vitamina A que é beta-caroteno, e este composto apresenta capacidade de controlar a diferenciação e a proliferação celulares nos epitélios (AMBROSI, M.A.; REINEHR, C.O.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.A.V.; COLLA, 2008; BELAY et al., 1993).

Estudos realizados *in vitro* e *in vivo* comprovaram a eficácia dos compostos bioativos presentes na *S. platensis*, especialmente, anti-hipertensivo, antioxidante, antitumoral, efeito antiproliferação e antimicrobiano (EL-DESOUKI et al., 2015; SUETSUNA; CHEN, 2001). Estes efeitos protetores do extrato de espirulina podem ser atribuídos aos efeitos antioxidantes de seus compostos ativos (GABR; EL-SAYED; HIKAL, 2020; MEDHAT et al., 2019).

A ficocianina é um corante azul (Figura 2) presente na *S. platensis* e que pode ser usado como corante natural (MORAES et al., 2011). O FDA nos Estados Unidos classificou o extrato

de espirulina como corante isento de certificação e aprovou seu uso em produtos de confeitaria (incluindo doces gomas de mascar), coberturas, sorvetes e sobremesas congeladas, coberturas para sobremesas, misturas e pós de bebidas, iogurtes, cremes, pudins, requeijão, gelatina, farinha de rosca e cereais prontos para consumo (excluindo cereais extrusados), em níveis consistentes com as boas práticas de fabricação. A espirulina é aplicada principalmente em produtos alimentares que contêm açúcar com valores de pH neutro ou ligeiramente ácido, altas concentrações de açúcar e proteínas, bem como pouca água, fornecendo condições ideais para sua aplicação (BUCHWEITZ, 2016).

Figura 2 - Estrutura química da ficocianina.



Fonte: Adaptado de Zheng et al. (2013).

Muitos trabalhos podem ser encontrados na literatura com a adição da *S. platensis* em sua forma integral nos alimentos, principalmente em pães e iogurtes, contudo o uso do extrato de *S. platensis* é mais restrito. Na Tabela 3 são apresentados alguns trabalhos encontrados na literatura com o uso de extrato de espirulina como corante em alimentos.

Tabela 3- Alimentos com aplicação de extrato de espirulina e *S. platensis* em sua forma integral.

Alimento	Tipo de espirulina usada	Referência
Iogurte desnatado	Extrato	(AGHAJANI, A.; MORTAZAV, S.A.; YAZDI, F. T.; ZENOSIAN, M. S.; ASL, 2018)
Doce de geleia	Extrato microencapsulado alginato/maltodextrina	em (DEWI; KURNIASIH; PURNAMAYATI, 2018)
Sorvete e queijo	Extrato	(AGUSTINI, T. W.; MA'RUF, W. F.; WIDATAY; SUZERY,

		M.; HADIYANTO; BENJAKUL, 2016)
Leite fermentado	<i>S. platensis</i> em sua forma integral	(BEHESHTIPOUR et al., 2013)
Iogurte	<i>S. platensis</i> microencapsulada em maltodextrina em sua forma integral	(DA SILVA et al., 2019)
Crostini	<i>S. platensis</i> em sua forma integral	(NICCOLAI et al., 2019)
Pão de trigo	<i>S. platensis</i> em sua forma integral	(NUNES et al., 2020)
Pão de trigo	<i>S. platensis</i> em sua forma integral	(ZLATEVA; CHOCHKOV, 2019)

Fonte: Autoria própria (2020).

Apesar de já existir comercialmente corante a partir do extrato de espirulina, são poucos os estudos que apresentam aplicação desse aditivo em forma de extrato em produtos alimentícios. A grande maioria de estudos com a *S. platensis* consiste no uso integral da alga, e não do extrato, explorando também a composição de suas proteínas.

3.3.3 Hibisco

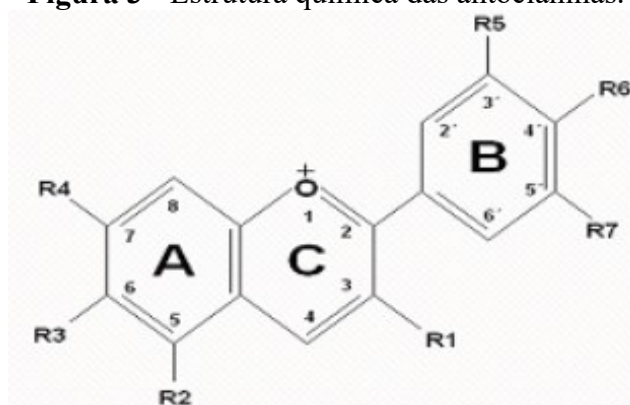
O hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.), planta tropical pertencente à família Malvaceae, é utilizado como potente agente fitoquímico devido à sua composição. A parte da planta mais utilizada pela indústria alimentícia são os cálices (MOURA, 2018a; PIMENTEL-MORAL et al., 2018b).

Os cálices secos do hibisco são utilizados mundialmente na produção de bebidas (chá de ervas), geleias, molhos, “chutneys”, vinhos, conservas e são fonte natural de corante alimentício devido à presença de antocianinas. Sua composição apresenta carboidratos, fibras, proteínas, polifenóis, antocianinas e flavonoides e é rico em ácido ascórbico (MOURA, 2018b; RIAZ; CHOPRA, 2018; SILVA; WIEST; CARVALHO, 2016). O hibisco é rico em compostos bioativos como antocianinas e outros flavonoides, ácidos orgânicos e polissacarídeos responsáveis por suas atividades antioxidantes, antibacterianas, anti-inflamatórias, hepatoprotetoras e anticolesterol (DA-COSTA-ROCHA et al., 2014; FORMAGIO et al., 2015).

As antocianinas são um grupo de compostos fenólicos encontrados em uma ampla variedade de flores e frutas de coloração púrpura-avermelhada e têm sido utilizadas como alternativas naturais para a substituição de corantes artificiais na indústria de alimentos (BORRÁS-LINARES et al., 2015a). A estrutura química básica das antocianinas é baseada em uma estrutura policíclica de quinze carbonos, conforme a Figura 3. Segundo (BORRÁS-

LINARES et al., 2015) os cálices de *H. Sabdariffa* possuem uma coloração vermelha atribuída pelos compostos delphinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucosídeo, delphinidina-3-sambubiosídeo e cianidin-3-sambubiosídeo. Além do potencial de coloração bem relatado, esses compostos exibem propriedades bioativas como potencial antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, antitumoral e hepatoprotetor e, como tal, podem atuar como ingredientes multifuncionais; como corantes naturais, bem como ingredientes que promovem a saúde (JABEUR et al., 2017).

Figura 3 - Estrutura química das antocianinas.



Fonte: Delgado-Vargas; Jiménez; Paredes-López (2000).

Diversos estudos têm empregado o extrato de hibisco como fonte de antioxidantes e também corante para alimentos. Na Tabela 4 estão apresentados alguns estudos recentes neste sentido.

Tabela 4- Alimentos em que o hibisco tem sido aplicado na forma de extrato.

Alimento	Forma de aplicação do extrato	Referência
Iogurte	Extrato emulsionado em óleo de uva e microencapsulado em pectina	(MOURA, 2018)
Iogurte	Extrato	(NOVIATRI; SETIANINGRUM; HASKITO, 2020)
Leite fermentado	Extrato	(SU et al., 2020)
Pão de trigo	Extrato	(MATA-RAMÍREZ et al., 2018)
Bala de goma	Extrato emulsionado em óleo de uva e microencapsulado em pectina	(DE MOURA et al., 2019)

Fonte: Autoria própria (2020).

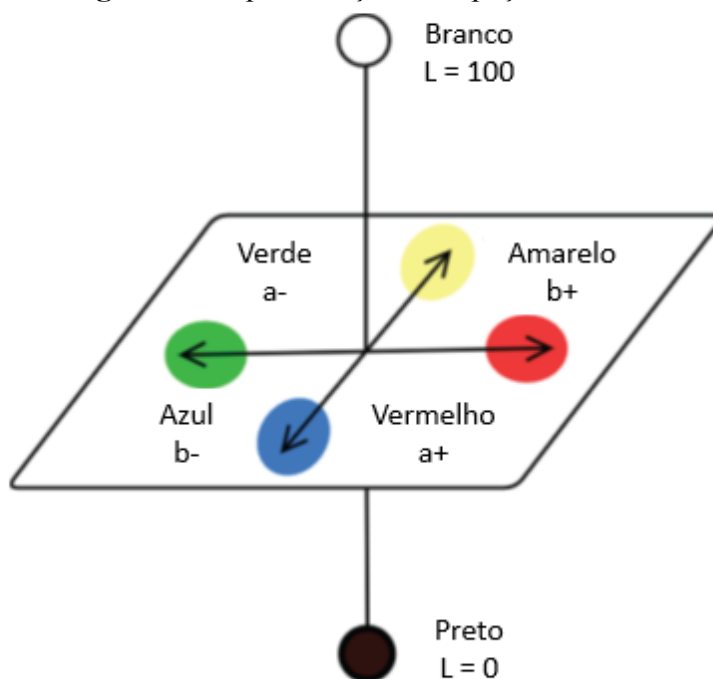
3.4 Substituição dos Corantes artificiais pelos Corantes naturais

Apesar de oferecerem inúmeras vantagens sobre os corantes artificiais, os corantes naturais muitas vezes não apresentam a mesma tonalidade e intensidade de cor que os artificiais. Assim, a mistura de diferentes corantes naturais é uma alternativa para viabilizar a substituição de determinados corantes artificiais, como por exemplo a mistura de suco de beterraba e extrato de cenoura roxa (AKHTAR et al., 2012). Empresas especializadas em aditivos alimentares oferecem como serviço a busca de formulações personalizadas para os clientes do setor, customizando a formulação corante para cada produto (CHR-HANSEN, 2020; IFC-SOLUTIONS, 2020).

Outra questão que envolve a substituição dos corantes artificiais é a menor estabilidade que os corantes naturais têm frente aos sintéticos. A degradação da cor nesses corantes é altamente influenciada pelo pH e outras condições ambientais como luz, temperatura e processo de oxidação. Além disso, o uso de corantes naturais pode interferir no sabor dos alimentos, quando adicionado em altas concentrações, podem apresentar sabor desagradável (DIKSHIT; TALLAPRAGADA, 2018).

A forma mais comum de padronização da cor de um alimento aditivado com corantes naturais ou artificiais, é o espaço de cores $L^* a^* b^*$, também conhecido por CIELAB, utilizado por indústrias alimentícias, têxtil, de plástico, tintas e Universidades (MINOLTA, 2020). O espaço de cores CIE 1976 (L^* , a^* , b^*), abreviado como CIELAB é representado pela Figura 4, onde o coeficiente de luminosidade, L^* , varia de preto (0) a branco (100). No eixo horizontal, valores positivos da coordenada a^* indicam um matiz de vermelho-púrpura e valores negativos de a^* , de verde azulado. Já no eixo vertical, valores positivos de b^* indicam amarelo e negativos azul (MCGUIRE, 1992).

Figura 4 - Representação do espaço CIELAB.

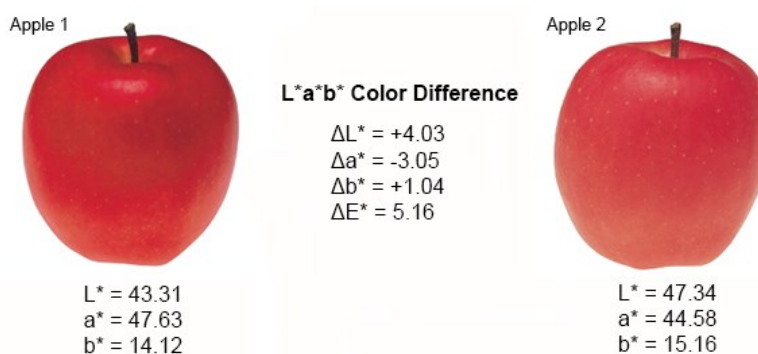


Fonte: Afonso et al. (2017).

Mesmo que duas cores pareçam iguais para uma pessoa, pequenas diferenças podem ser encontradas quando avaliadas com um instrumento de medição de cores. A diferença de cor, Delta (Δ), pode ser definida como a comparação numérica da cor de uma amostra com o padrão nas coordenadas de cores absolutas (MINOLTA, 2020). A diferença de cor é calculada de acordo com a Equação (1) e um exemplo de comparação entre a cor de duas amostras é apresentado na Figura 5.

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_1^* - L_2^*)^2 + (a_1^* - a_2^*)^2 + (b_1^* - b_2^*)^2} \quad \text{Equação (1)}$$

Figura 5 - Diferença de cor entre duas amostras de maçã.



Fonte: Minolta (2020).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Foram adquiridos no mercado local de Campo Mourão (PR) o extrato de hibisco e espirulina para serem utilizados como fontes dos corantes naturais. Curcumina, polivinilpirrolidona (PVP K40) (Sigma Aldrich, São Paulo, SP), tween 80 e etanol absoluto (P.A., Dinâmica, Indaiatuba, SP) foram utilizados para produção do corante hidrossolúvel de curcumina (nanoencapsulação). Os sais fosfato de sódio monobásico anidro (P.A., Vetec Química Fina, Duque de Caxias, RJ), fosfato de sódio dibásico anidro (P.A., Proquímios, Rio de Janeiro, RJ), citrato de sódio dihidratado (P.A. Proquímios, Rio de Janeiro, RJ) e ácido cítrico monohidratado (P.A. Proquímios, Rio de Janeiro, RJ) foram utilizados para preparação dos tampões. O iogurte natural batido (Vigor) foi adquirido no mercado local de Campo Mourão (PR). Foram também adquiridos no mercado local de Campo Mourão os corantes artificiais: amarelo gema (contendo tartrazina, INS 102 e amarelo crepúsculo, INS 100), amarelo damasco (contendo tartrazina, INS 102) e vermelho morango (contendo ponceau 4R, INS 129) (Mix Ingredientes, Indaiatuba, SP). A tartrazina (INS 102) foi gentilmente doada pela Duas Rodas Industrial (Jaraguá do Sul, SC).

4.2 Encapsulação da Curcumina e obtenção dos extratos

A nanoencapsulação da curcumina foi feita pelo método de dispersão sólida adaptado de (ALMEIDA et al., 2018). Inicialmente dissolveu-se o Tween 80 (0,040 g) em etanol (110 mL) sob agitador magnético (Fisatom – 761-5). Em seguida adicionou-se o PVP (0,400 g) e a curcumina (0,040 g) e logo após a mistura foi levada ao Ultrassom (Fisher Scientific) em regime de pulso (30 s ligado/10 s pausa) a 100% de amplitude e 120W usando uma ponteira de 1/8' e banho de gelo durante 5 minutos. Então o solvente foi evaporado em estufa de convecção a 50°C por pelo menos 5 horas.

A metodologia para extração de ficocianina da *Spirulina platensis* foi adaptada de (SILVEIRA et al., 2007). Adicionou-se a espirulina (15 g) à água destilada (750 mL) e levada para o Ultra-turrax (T25, IKA, Staufen, Alemanha) a 7.000 rpm durante 20 minutos. Então, a

mistura foi levada para a centrífuga, o sobrenadante foi filtrado a vácuo, e o extrato foi liofilizado (Liotop L101, Liobrás, São Carlos, SP).

Para a extração das antocianinas a partir da flor de hibisco, foi adaptada a metodologia de Rasheed et al. (2018). O hibisco (7,5 g) foi adicionado em água destilada pré-aquecida a 85°C (750 mL) e levada ao Ultra-turrax a 7.000 rpm por 20 minutos. Em seguida a mistura foi submetida à filtração a vácuo e liofilizada.

4.3 Planejamento de Mistura e coleta dos dados de cor

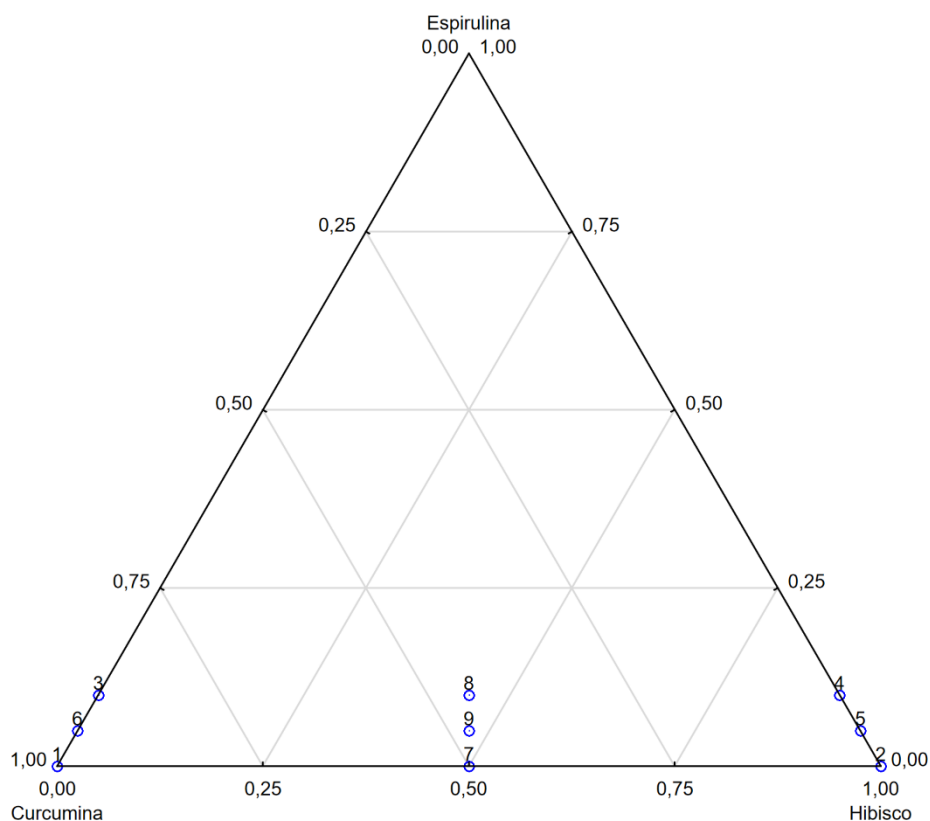
Esta etapa de produção das misturas do planejamento e coleta dos dados a partir da mesma foram desenvolvidos por Silva (2019). Foi utilizado no presente estudo, o planejamento de misturas, com restrição de máximo de 10% de extrato de espirulina, para avaliar o efeito da composição dos corantes nos parâmetros de cor. O planejamento experimental foi gerado pelo software Statistica 13 (TIBCO Software Inc. (2017) (<http://statistica.io>) com as seguintes considerações: duplicata no ponto central, restrição de máximo para o extrato de espirulina (máximo = 0,1) e obtenção de um modelo cúbico especial. A restrição foi aplicada em função de pré-testes que foram realizados para avaliar o efeito do poder corante de cada extrato. O planejamento utilizado está apresentado na Tabela 5 e sua representação gráfica está na Figura 6.

Tabela 5- Matriz experimental do planejamento de mistura com restrição de máximo para o extrato de espirulina.

Mistura	X ₁ Curcumina encapsulada	X ₂ Extrato de Hibisco	X ₃ Extrato de espirulina
1	1,000	0,000	0,000
2	0,000	1,000	0,000
3	0,900	0,000	0,100
4	0,000	0,900	0,100
5	0,000	0,950	0,050
6	0,950	0,000	0,050
7	0,500	0,500	0,000
8	0,450	0,450	0,100
9	0,475	0,475	0,050

Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 6 - Planejamento de misturas com restrição de máximo para espirulina.



Fonte: Autoria própria (2020).

As misturas foram aplicadas em tampões, simulando alimentos com diferentes pHs (tampão fosfato pH 6,9; e citrato pH 3,0) e também foram aplicadas a iogurte natural batido (pH 4,0). A concentração de mistura de corantes em relação ao volume de tampão ou de iogurte foi de 10% p/v, sendo a homogeneização feita com agitador magnético até que a coloração ficasse homogênea. Os parâmetros de cor foram determinados com um colorímetro Delta Vista 450G (Delta Color, São Leopoldo, RS), equipado com um acessório para determinação de cor em líquidos. Foram realizadas 3 leituras para cada mistura. A média das leituras foi utilizada na análise do planejamento experimental.

4.4 Coleta de dados dos Corantes artificiais

Os corantes artificiais foram solubilizados nos meios simulados nas concentrações apresentadas na Tabela 6. Tais concentrações foram definidas após a realização de pré-testes para verificar uma aproximação visual entre os corantes naturais e os artificiais. O procedimento de solubilização e coleta dos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) foi o mesmo realizado por Silva

(2019). Todos os corantes foram preparados em triplicata para cada meio e a média foi utilizada para as análises posteriores.

Tabela 6- Formulações usadas para preparação dos meios contendo corantes artificiais (corantes amarelo gema e vermelho morango possuem apresentação líquida; corantes amarelo damasco e tartrazina possuem apresentação sólida).

Corante	Meio de preparação	Concentração de corante
Amarelo gema	Tampão citrate	20 μ L/mL
	Tampão fosfato	
	Iogurte natural	
Amarelo damasco	Tampão citrate	20 mg/mL
	Tampão fosfato	
	Iogurte natural	
Tartrazina	Tampão citrate	20 mg/mL
	Tampão fosfato	
	Iogurte natural	
Vermelho morango	Tampão citrate	3 μ L/mL
	Tampão fosfato	
	Iogurte natural	

Fonte: Autoria própria (2020).

4.5 Modelagem Matemática da Diferença de cor

Para a obtenção dos modelos de diferença de cor, inicialmente foi calculada a diferença de cor (ΔE^* , Equação (1)) entre os resultados obtidos para cada ponto experimental obtido também por Silva (SILVA, 2019) e cada corante artificial no respectivo meio simulado. Os dados de ΔE^* então ajustados por regressão linear no software Statistica 13 considerando-se inicialmente um modelo do tipo cúbico especial.

Para a validação dos modelos foram realizadas análises de variância (ANOVA, 95% de confiança), sendo consideradas a significância da regressão e também a falta de ajuste dos modelos gerados. Sendo significativa a regressão e não havendo falta de ajuste foram avaliados os coeficientes do modelo de regressão quanto à sua significância (p -valor $\leq 0,05$) juntamente com os valores dos coeficientes de determinação do modelo (R^2 e R^2_{adj}). Caso os coeficientes do modelo não apresentassem significância eram retirados e os coeficientes de determinação do modelo novamente avaliados. Caso o coeficiente, mesmo não apresentando significância

apresentasse melhora no ajuste dos dados era mantido no modelo. Por fim o modelo matemático foi definido.

Considerando as informações discutidas anteriormente, pretende-se no presente trabalho determinar a composição de misturas dos corantes naturais, curcumina encapsulada, extratos de hibisco e espirulina que apresentem menor diferença de cor em relação aos corantes artificiais comercialmente disponíveis. As misturas foram previamente produzidas e sua cor determinada por Silva (2019) que determinou os modelos experimentais que descreviam os parâmetros de cor a partir de um planejamento de misturas. Assim, para dar continuidade no tema, determinaram-se os parâmetros de cor de quatro corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, tartrazina e vermelho morango) aplicados aos mesmos meios em que os corantes naturais foram usados, e a diferença de cor com relação a cada ponto experimental foi calculada e modelada experimentalmente. Pontos otimizados de menor diferença de cor foram determinados e posteriormente a validação experimental será realizada para confirmação dos resultados otimizados.

4.6 Análise de Componentes Principais

Para explorar a relação entre os corantes artificiais e as misturas de corantes naturais nos meios de aplicação avaliados, uma Análise de Componentes Principais foi realizada, usando o *software* MATLAB R2021a (MathWorks Inc., Natick, MA). Os resultados experimentais obtidos para os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) foram colocados em colunas e os pontos experimentais em linhas. Antes da análise, cada coluna foi centrada na média e dividida pela sua variância, resultando em uma matriz normalizada. As primeiras componentes principais com variância explicada acima de 95% foram selecionada para representação das amostras no novo espaço de projeção.

4.7 Otimização e Validação experimental da Composição das misturas

A otimização da composição da mistura de corantes naturais foi realizada com o software GNU Octave 5.2, visando minimizar a diferença de cor com as misturas de corantes artificiais em cada meio. Para tanto, os modelos matemáticos de ΔE^* foram otimizados com algoritmo simplex sequencial de acordo com Tormena et al. (2017) em GNU Octave 5.2. Após

a otimização, as misturas foram preparadas conforme a composição otimizada e validadas experimentalmente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de diferença de cor determinada entre os corantes artificiais e a cor das misturas de corantes naturais quando aplicados em tampão fosfato, tampão citrato e iogurte natural (experimentos expostos na Tabela 5) estão apresentados na Tabela 7. Os valores determinados para os parâmetros L*, a* e b* nos meios para cada corante artificial utilizados nos cálculos de ΔE^* (Equação (1)) estão apresentados nas Tabelas dos Apêndice A, B e C.

Tabela 7- Valores de ΔE^* em relação aos corantes artificiais em diferentes valores de pH. *Proporção dos componentes na mistura (X₁-Curcumina encapsulada/X₂-Extrato de hibisco/X₃-extrato de espirulina).

Tampão fosfato (pH = 6,9)				
EXP*	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
1 (1/0/0)	42,95	43,43	41,13	56,94
2 (0/1/0)	30,28	30,42	37,39	51,82
3 (0,9/0,0/0,1)	51,75	52,35	46,37	62,27
4 (0/0,9/0,1)	48,85	49,26	45,89	61,63
5 (0/0,95/0,05)	36,74	37,00	39,65	54,86
6 (0,95/0/0,05)	44,19	44,61	44,02	59,78
7 (0,5/0,5/0))	33,29	34,65	7,95	21,36
8 (0,45/0,45/0,1)	45,40	46,30	33,98	49,63
9 (0,475/0,475/0,05)	38,02	39,13	21,83	37,26
9' (0,475/0,475/0,05)	41,89	42,80	30,88	46,65
Tampão citrato (pH = 3,0)				

EXP	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
1 (1/0/0)	39,29	46,79	23,54	7,26
2 (0/1/0)	33,00	23,72	38,90	54,04
3 (0,9/0,0/0,1)	33,51	35,61	6,99	20,56
4 (0/0,9/0,1)	45,92	36,69	44,21	60,63
5 (0/0,95/0,05)	43,13	33,86	42,98	59,24
6 (0,95/0/0,05)	29,86	31,49	5,63	21,77
7 (0,5/0,5/0))	29,10	27,11	16,05	32,67
8 (0,45/0,45/0,1)	36,84	32,91	23,00	39,61
9 (0,475/0,475/0,05)	36,38	32,03	25,06	41,75
9' (0,475/0,475/0,05)	32,55	28,52	27,52	44,10
Iogurte (pH = 4,0)				
EXP	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
1 (1/0/0)	33,97	87,98	2,92	3,96
2 (0/1/0)	84,48	19,14	87,75	90,37
3 (0,9/0,0/0,1)	43,02	80,30	16,78	20,14
4 (0/0,9/0,1)	89,03	27,33	90,12	92,67
5 (0/0,95/0,05)	87,07	23,19	89,32	91,91
6 (0,95/0/0,05)	39,28	82,38	11,35	12,86
7 (0,5/0,5/0))	34,58	81,26	8,92	11,09
8	45,65	76,07	23,68	25,28

(0,45/0,45/0,1)				
9	40,08	79,10	16,71	18,37
(0,475/0,475/0,05)				
9'	40,39	77,11	17,55	19,38
(0,475/0,475/0,05)				

Fonte: Autoria própria (2020).

De acordo com os resultados da Tabela 7 é possível observar que os corantes artificiais amarelo gema e vermelho morango, quando aplicados no tampão fosfato (pH 6,9), apresentaram menores diferenças de cor com o ponto do planejamento de misturas que contém apenas extrato de hibisco (experimento n° 2), fato esse que se deve ao extrato de hibisco possuir coloração avermelhada em função das antocianinas de sua composição, apesar do pH não ser favorável a sua coloração original, o extrato aplicado no meio fosfato apresentou coloração vermelha conforme a Figura 4. Entretanto, quando estes corantes artificiais são comparados com composições de mistura contendo curcumina encapsulada e extrato de espirulina (experimentos n° 3 e 6), mesmo que em menor proporção, há uma maior variação de cor. O extrato de espirulina influenciou significativamente a turbidez das soluções, pois apresentou dificuldade de homogeneização nas misturas assim como ocorreu no experimento de Silva (2019), causando precipitação e falta de homogeneidade no meio, além de causar redução de luminosidade.

Já os corantes artificiais amarelo damasco e tartrazina apresentaram menor diferença quando comparados à mistura binária de extratos curcumina e hibisco em todos os meios (experimento n° 7). Novamente a espirulina mesmo em baixas proporções causou um aumento nos valores de ΔE^* (experimentos n° 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9). Os corantes amarelo damasco e tartrazina são da mesma tonalidade que a mistura dos componentes curcumina e hibisco o que resulta em menores valores de ΔE^* .

A menor diferença encontrada para o corante artificial amarelo gema aplicado no tampão citrato foi com relação à mistura binária de curcumina e hibisco (experimento n° 7), sendo o mesmo comportamento determinado para o tampão fosfato. As maiores diferenças foram determinadas com relação à mistura binária de extrato de hibisco e espirulina (experimento n° 4).

Para o corante artificial vermelho morango, também aplicado no tampão citrato, foram obtidas maiores diferenças com o ponto experimental contendo apenas a curcumina

encapsulada (experimento n° 1), que tem tonalidade amarela. Todavia, determinaram-se diferenças menores com relação ao ponto experimental onde o extrato de hibisco puro foi avaliado, pois este apresenta coloração avermelhada.

No caso do corante artificial amarelo damasco, foram observadas diferenças menores com a mistura binária de curcumina encapsulada e extrato de espirulina (experimento n° 6) e maiores diferenças com relação ao ponto onde a composição era de extrato de hibisco e espirulina (experimento n° 4).

Já nas análises do corante artificial tartrazina, houve menores diferenças com relação à curcumina encapsulada pura (experimento n° 1) e maior diferença com a formulação contendo hibisco e espirulina (experimentos n° 4).

Nas misturas aplicadas no iogurte com os corantes artificiais amarelo gema, amarelo damasco e tartrazina, observou-se menores diferenças comparadas à de extrato curcumina encapsulada pura, e maior diferença com relação ao ponto experimental onde a mistura binária de hibisco e espirulina foi avaliada (experimento n° 4.). Ainda no iogurte, o corante artificial vermelho morango apresentou diferença de cor menor com o extrato de hibisco puro (experimento n° 2) e maior diferença com a curcumina encapsulada pura.

De forma geral, o ponto experimental n° 4 onde hibisco e espirulina foram utilizados em conjunto apresentaram menor compatibilidade de cor com os corantes artificiais.

Foram então determinados os modelos matemáticos experimentais para descrever a diferença de cor entre as misturas naturais e os corantes artificiais nos meios tampões citrato e fosfato, bem como no iogurte natural. Na Tabela 8 são apresentados os resultados resumidos da análise de variância da regressão do modelo matemático de diferença de cor entre as misturas e os corantes artificiais e, assim como os coeficientes dos modelos para ΔE^* . As tabelas de ANOVA completas de cada modelo encontram-se nos apêndices D-O.

Tabela 8- Coeficientes dos modelos para o ΔE^* para diferentes cores e valores de pH (p-valor dos coeficientes entre parêntesis).

Tampão fosfato (pH = 6,9)				
Coeficientes	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
C (b ₁)	42,35 (< 0,01)	42,87 (< 0,01)	40,62 (< 0,01)	56,15 (< 0,01)
H (b ₂)	29,63 (< 0,01)	29,84 (< 0,01)	37,55 (< 0,01)	52,32 (< 0,01)
S (b ₃)	209,01 (< 0,01)	210,30 (< 0,01)	105,41 (0,02)	127,04 (0,02)
C x H (b ₁ .b ₂)	- 12,07 (0,09)	-8,97 (0,18)	-116,45 (< 0,01)	-121,64 (< 0,01)
C x S (b ₁ .b ₃)	- 96,29 (0,07)	-97,77 (0,07)	-	-
H x S (b ₂ .b ₃)	-	-	-	-
C x H x S (b ₁ .b ₂ .b ₃)	-	-	708,12 (0,05)	779,68 (0,05)
p (regressão)	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
p (falta de ajuste)	0,80	0,75	0,93	0,90
R ²	96,02	94,87	94,97	94,12
R _{ADJ} ²	91,05	90,76	90,95	89,95
Tampão citrato (pH = 3,0)				
Coeficientes	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
C (b ₁)	36,84 (< 0,01)	43,30 (< 0,01)	18,62 (0,01)	8,86 (< 0,01)
H (b ₂)	33,62 (< 0,01)	24,18 (< 0,01)	37,25 (< 0,01)	53,78 (< 0,01)
S (b ₃)	175,71 (< 0,01)	170,02 (0,01)	-110,14 (0,16)	-2010,44 (0,01)
C x H (b ₁ .b ₂)	-16,78 (0,11)	-20,41 (0,12)	-20,07 (0,25)	-
C x S (b ₁ .b ₃)	-207,85 (0,02)	-253,81 (0,02)	268,02 (0,06)	2381,47 (< 0,01)
H x S (b ₂ .b ₃)	-	-	-	2354,53 (< 0,01)
C x H x S (b ₁ .b ₂ .b ₃)	-	-	-	-
p (regressão)	0,03	0,06	< 0,01	< 0,01
p (falta de ajuste)	0,56	0,41	0,21	0,49
R ²	82,67	78,73	90,94	99,16
R _{ADJ} ²	68, 81	61,71	83,7	98,49
Iogurte (pH = 4,0)				
Coeficientes	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
C (b ₁)	34,19 (< 0,01)	87,53 (< 0,01)	2,87 (< 0,01)	3,98 (< 0,01)
H (b ₂)	84,55 (< 0,01)	19,12 (< 0,01)	87,70 (< 0,01)	90,31 (< 0,01)

S (b₃)	4,65 (0,94)	101,03 (< 0,01)	-79,41 (0,44)	-93,58 (0,42)
C x H (b₁.b₂)	-100,35 (< 0,01)	110,76 (<0,01)	-145,09 (< 0,01)	-144,11 (< 0,01)
C x S (b₁.b₃)	131,63 (0,16)	-101,70 (< 0,01)	267,52 (0,07)	288,31 (0,08)
H x S (b₂.b₃)	137,39 (0,15)	-	211,90 (0,12)	229,79 (0,13)
C x H x S (b₁.b₂.b₃)	-	-	-59,95 (0,13)	-93,38 (0,06)
p (regressão)	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
p (falta de ajuste)	0,46	0,90	0,90	0,97
R²	99,99	99,95	100,00	100,00
R_{ADJ}²	99,98	99,91	99,99	99,99

Fonte: Aatoria própria (2020).

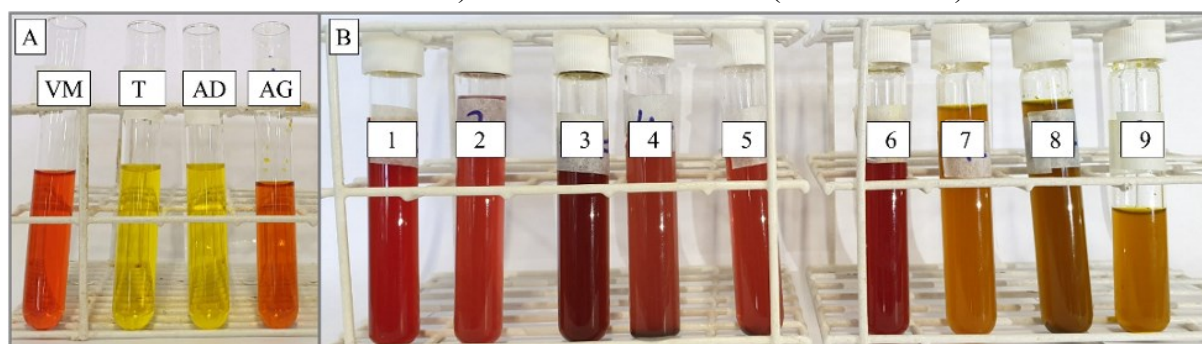
De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8 é possível concluir que não há falta de ajuste para os dados de diferença de cor (ΔE^*) entre os corantes artificiais amarelo gema e vermelho morango com os pontos do planejamento experimental aplicados no tampão fosfato, já que o p-valor da falta de ajuste é maior que 5%. Além disso a regressão é significativa, pois $p < 0,05$. Também não houve falta de ajuste para o corante artificial amarelo damasco aplicado neste mesmo tampão. Ademais a regressão é significativa, pois $p < 0,05$. Com relação aos coeficientes apresentados na Tabela 8, apesar do fator referente à espirulina pura, assim como os fatores de interação binários entre os componentes ($b_1.b_2$, $b_1.b_3$ e $b_2.b_3$) não apresentassem significância, foram mantidos no modelo pelo efeito na melhora da previsão dos dados. Ainda, R^2 e R^2_{adj} apresentaram-se adequados para descrição da diferença de cor entre o corante artificial e a mistura dos corantes naturais.

É possível observar na Tabela 8 que os coeficientes lineares da curcumina encapsulada (b_1) e do extrato de hibisco (b_2) apresentaram-se significativos para o modelo de diferença de cor com o corante amarelo gema no tampão fosfato (Figura 4). O fator linear referente ao extrato de espirulina, bem como os fatores de interação binários entre os componentes ($b_1.b_2$, $b_1.b_3$ e $b_2.b_3$) foram mantidos no modelo, mesmo não apresentando-se estatisticamente significativos, pois sua permanência no mesmo garantiu a melhor previsão dos dados (R^2 e R^2_{adj}). O fator de interação ternária foi retirado do modelo, uma vez que não se mostrou significativo, além de não comprometer sua capacidade de previsão. Os valores de R^2 e R^2_{adj} apresentaram-se

adequados para descrição da diferença de cor entre o corante artificial e a mistura dos corantes naturais.

Percebe-se que todos os 3 componentes puros da mistura apresentaram efeito positivo sobre a diferença de cor, e a interação entre os componentes binários teve efeito negativo sobre o ΔE^* . Desta forma percebe-se que as interações entre os compostos levam a uma maior aproximação da cor dos compostos naturais no meio avaliado (tampão fosfato) com relação ao corante artificial em questão (amarelo gema), como pode ser observado na Figura 4. Desta forma, se os compostos puros fossem utilizados de forma isolada, o extrato de hibisco apresentaria maior similaridade, contudo as misturas ainda apresentam vantagem por reduzir o ΔE^* , principalmente as compostas por hibisco e curcumina encapsulada.

Figura 7 - Corantes aplicados no tampão fosfato (pH 6,9): A - Corantes artificiais (VM – Vermelho morango; T – Tartrazina; AG – Amarelo gema; e AD – Amarelo damasco) e B - Corantes naturais (vide Tabela 7).



Fonte: A - Autoria própria (2020); B – Silva (2019).

Os coeficientes dos componentes puros (curcumina, hibisco e espirulina) apresentaram-se significativos para o modelo de diferença de cor com o corante vermelho morango no tampão fosfato (Figura 7). Apenas dois dos fatores de interação binários foram mantidos no modelo ($b_{1.b_2}$ e $b_{1.b_3}$), mesmo não apresentando-se estatisticamente significativos, pois sua permanência no mesmo garantiu a melhor previsão dos dados (R^2 e R^2_{adj}). O fator de interação ternária foi retirado do modelo, uma vez que não mostrou-se significativo, além de comprometer sua capacidade de previsão. Os valores de R^2 e R^2_{adj} apresentaram-se adequados para descrição da diferença de cor entre o corante artificial e a mistura dos corantes naturais. O mesmo comportamento determinado para o corante amarelo gema foi observado para o corante

vermelho morango, a mistura binária de extrato de hibisco e curcumina encapsulada garantiram uma aproximação maior da cor quando comparado ao corante artificial.

Para o corante tartrazina, os resultados referentes à diferença de cor, análise de regressão e coeficientes do modelo também apresentou significância e não apresentou falta de ajuste considerando um nível de confiança de 95%. Com relação aos fatores, os únicos fatores que não apresentaram significância a 95% de confiança no modelo foram as misturas binárias em que o extrato de espirulina estava presente ($b_1.b_3$ e $b_2.b_3$). Estes fatores também não contribuíram para a previsão do modelo, sendo eliminados do mesmo. O fator de interação ternária ($b_1.b_2.b_3$), apresentou p-valor no limite da significância, além disso sua permanência contribuiu para melhora na previsão do modelo (R^2 e R^2_{adj}). A maior significância foi determinada para a mistura de extrato de hibisco e curcumina que contribuem positivamente para a redução da variação de cor. Novamente a interação entre curcumina encapsulada e extrato de hibisco proporciona uma aproximação da cor da mistura com relação ao corante artificial, reduzindo ΔE^* , isso pode ser observado na Figura 7.

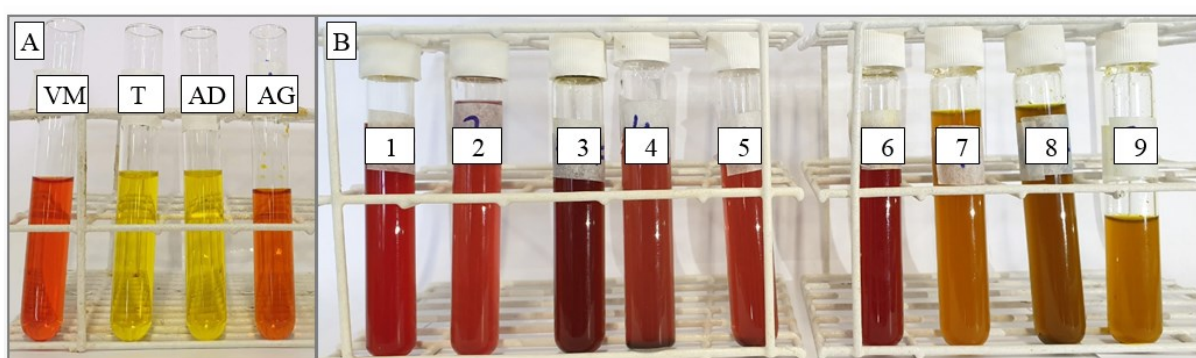
Quanto aos resultados referentes à aplicação dos corantes em tampão citrato (Figura 8) com o corante amarelo gema, a análise de regressão indicou significância do modelo e não foi detectada falta de ajuste a 95% de confiança. A avaliação dos coeficientes do modelo indica que o coeficiente do extrato de hibisco puro apresentou-se mais significativo para o modelo dentre os parâmetros. Também neste modelo o fator referente à mistura binária de curcumina encapsulada e extrato de espirulina demonstrou importância, permitindo maior aproximação da cor com o corante amarelo gema. Este efeito foi mantido no caso do modelo para o mesmo corante em tampão fosfato, porém este não apresentava significância sendo mantido apenas para auxiliar na previsão do modelo. Contudo no caso em que a aplicação foi feita em tampão citrato, esta interação foi significativa a 95% de confiança.

A curcumina pode ser utilizada em produtos de qualquer grau de acidez (MARCOLINO; DURRANT, 2008), e o citrato possui pH ácido, o que favorece a coloração com esse extrato. Para Chaiklahan, Chirasuwan e Bunnag (2012a) o pH entre 5,0 e 6,0 é o mais adequado para manter as propriedades da ficocianina, composto que confere cor à espirulina, enquanto o pH 5,0 apresenta baixa estabilidade. Já em pH 3,0, a ficocianina sofreu precipitação e desnaturação, pois quando a proteína desnatura ocorre a descoloração da ficocianina (CHAIKLAHAN; CHIRASUWAN; BUNNAG, 2012b). Sendo assim, o citrato, por apresentar pH ácido mostrou-se mais adepto à coloração original do extrato de curcumina, entretanto

mudou a coloração original da espirulina, resultando em uma coloração mais próxima do corante amarelo gema.

O modelo determinado para a diferença de cor com o corante artificial vermelho morango aplicado no tampão citrato, não apresentou significância ($p > 0.05$), sendo sua previsão inadequada para descrever tal resposta.

Figura 8- Corantes aplicados no tampão citrato (pH 3,0): A - Corantes artificiais (VM – Vermelho morango; T – Tartrazina; AG – Amarelo gema; e AD – Amarelo damasco) e B - Corantes naturais (vide Tabela 7).



Fonte: A - Autoria própria (2020); B - Silva (2019).

De acordo com a avaliação dos dados de diferença de cor das misturas com o corante amarelo damasco aplicados em tampão citrato, é possível concluir que não há falta de ajuste para os dados de diferença de cor (ΔE^*), já que o p-valor da falta de ajuste é maior que 5%. Além disso a regressão é significativa, pois $p < 0,05$. Avaliando os coeficientes deste modelo percebe-se que somente os coeficientes dos componentes curcumina encapsulada e extrato de hibisco puros apresentaram significância a 95% de confiança. Quando comparado ao modelo determinado para o mesmo corante, mas em tampão fosfato, a diferença entre os coeficientes que apresentaram significância é do fator da mistura binária $b_1.b_2$, que para o tampão citrato não foi significativo. De acordo com Março (2009) em meio ácido, as antocianinas apresentam coloração intensamente avermelhada. Mas com o aumento do pH, as antocianinas vão perdendo a cor, pois quando o pH atinge 6,5 – 8, ocorre a formação de estruturas que apresentam a cor violeta (anidrobases), e isso pode ter influenciado na cor final obtida, o que diferenciou da coloração amarela. A interação de hibisco e curcumina não se apresentaram significativas no meio mais ácido, apesar da diferença de cor não ser muito significativa, ainda sim foi praticamente o dobro do que no meio fosfato.

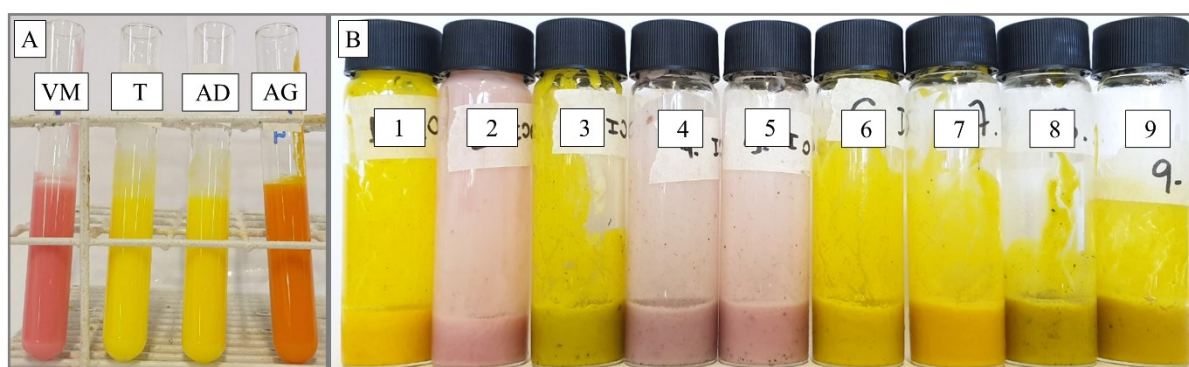
Para o corante tartrazina os resultados obtidos para a diferença de cor entre as misturas no tampão citrato verificou-se que há significância do modelo e que não há falta de ajuste. Ainda, nota-se que todos os fatores que foram mantidos no modelo possuem significância a 95% de confiança. Foram eliminados os fatores de interação binária entre a curcumina encapsulada e o extrato de hibisco ($b_1.b_2$), e o fator da interação ternária ($b_1.b_2.b_3$). Quando comparado ao modelo determinado para ΔE^* da tartrazina com a mistura dos corantes naturais e tampão fosfato, os resultados para o tampão citrato diferiram principalmente com relação aos efeitos de interação binária (Figura 8). Para o tampão fosfato somente a interação entre curcumina encapsulada e extrato de hibisco levava a uma redução significativa de ΔE^* . Já no caso do tampão citrato esta interação não se mostrou significativa, nem contribuiu para o modelo, mas as duas interações com espirulina ($b_2.b_3$ e $b_1.b_3$) sim. Além disso, ao contrário do que ocorreu nos demais modelos estas interações influenciaram de forma a aumentar a diferença de cor, sendo o único fator a indicar uma aproximação da cor da mistura com a tartrazina, o fator do extrato de espirulina puro. Mesmo o pH mais favorável para a estabilidade da molécula de ficocianina sendo 5,5-6,0, o extrato puro de espirulina mostrou-se significativo para o modelo no tampão citrato com pH 3,0, conseqüentemente uma diminuição na diferença de cor com a tartrazina. Assim, provavelmente, a ficocianina pode ter sofrido uma variação de cor, sofrendo uma descoloração e apresentando uma coloração amarelada, aproximando-se da coloração característica da tartrazina.

Foi avaliada também a aplicação dos corantes em iogurte. Para o corante amarelo gema percebe-se que o modelo apresentou significância para descrever os dados de diferença de cor entre a mistura. Não houve falta de ajuste significativa e todos os coeficientes mantidos apresentaram significância a 95% de confiança. Foram eliminados os coeficientes de interação da mistura binária de extratos de hibisco e espirulina ($b_2.b_3$), bem como o coeficiente da mistura ternária ($b_1.b_2.b_3$). Assim como no modelo para o mesmo corante no tampão citrato, o modelo da aplicação em iogurte mostrou que as interação da curcumina encapsulada com o extrato de espirulina foi importantes para a aproximação da cor da mistura à do corante artificial de acordo com a Figura 9. O iogurte natural batido contém leite desnatado e/ou leite desnatado reconstituído, leite integral e/ou leite integral reconstituído, soro de leite concentrado, açúcar líquido, amido modificado, fermento lácteo e estabilizante gelatina. Esses ingredientes podem influenciar na coloração obtida após a adição dos corantes, pois os tampões citrato e fosfato não apresentam esses ingredientes. O iogurte geralmente apresenta agregados densos de proteínas, gerados por colisões e cisalhamento durante o processo de mistura (LEE; LUCEY, 2006), e

essas proteínas auxiliam na mistura e melhor homogeneização e absorção dos corantes, tanto naturais como artificiais. De acordo com os resultados obtidos por Mohammadi-Gouraji; Soleimani-Zad; Ghiaci (2019) o pH e a acidez do iogurte foram os fatores mais importantes que influenciaram a cor de iogurte enriquecido com ficocianina. O índice b^* significa a presença de ficocianina no iogurte, que é supostamente variando em níveis de pH abaixo de 4,5 (MOREIRA et al., 2012). No entanto, apesar de os níveis de pH de armazenamento inferiores a 4,5, o índice b^* não exibiu alterações significativas. Contudo, diferente dos modelos determinados para os tampões, a interação entre curcumina encapsulada e extrato de hibisco ($b_1.b_2$) foi significativa e mostrou maior importância para o modelo quando comparada à $b_1.b_3$. Moura (2018) observou que as micropartículas de antocianinas apresentaram uma boa resistência ao pH da matriz de iogurte (pH 4,75), se mantendo íntegras e apresentando cor característica proveniente do extrato obtido. Essa característica tem grande importância do ponto de vista tecnológico para bioativos que precisam ser adicionados a um produto que apresente pH diferente daquele de sua estabilidade. O pH de estabilidade das antocianinas é 3,0, que é menor que o do iogurte, no caso pH 4,0.

O corante vermelho morango aplicado no iogurte apresentou regressão significativa e não indicou falta de ajuste, mostrando-se adequado para a previsão do comportamento de diferença de cor. Todos os coeficientes mantidos são significativos para o modelo, diferente do modelo que descreve o comportamento do corante vermelho morango em tampão fosfato, que somente apresentou significância dos fatores dos componentes puros. No caso do modelo para aplicação em iogurte o fator que permitiu uma maior aproximação da cor foi a interação binária entre a curcumina encapsulada e o extrato de espirulina ($b_1.b_3$) como pode ser observado na Figura 6. Krigger (2019) observou em seu estudo, que houve uma maior perda de cor no iogurte com o extrato sem encapsulação, e uma estabilidade semelhante para os iogurtes com o corante encapsulado. Isso deve-se, provavelmente, por estar mais protegido em relação ao extrato livre. A cor da ficocianina está associada à manutenção da estrutura da proteína, portanto, em valores extremos de pH sua estrutura é desnaturada (FUKUI et al., 2004), assim a ficocianina perde sua coloração em pH abaixo de 5,0 e acima de 7,0, o iogurte possui pH 4,0. Com isso, possivelmente a curcumina manteve sua coloração original, enquanto a espirulina sofreu uma descoloração devido o pH abaixo da faixa aceitável para as ficocianinas.

Figura 9 - Corantes aplicados no Iogurte (pH 4,0): A - Corantes artificiais (VM – Vermelho morango; T – Tartrazina; AG – Amarelo gema; e AD – Amarelo damasco) e B - Corantes naturais (vide Tabela 7).



Fonte: Figura A – Autoria própria (2020); Figura B - Silva (2019).

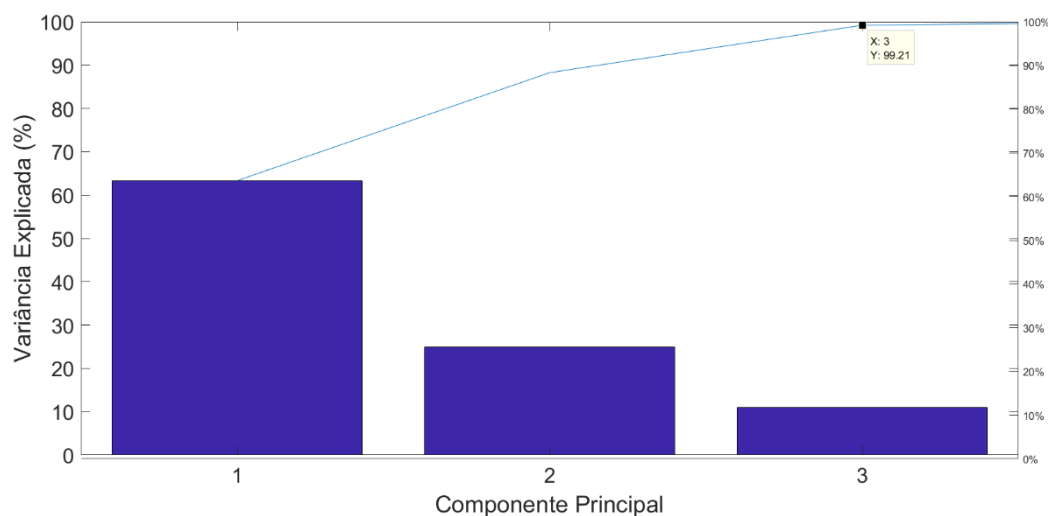
A avaliação da diferença de cor entre o corante amarelo damasco e a mistura de corantes naturais aplicados em iogurte apresentou modelo com regressão significativa. Não apresentou falta de ajuste e todos os fatores foram mantidos no modelo, por apresentarem significância (b_1 , b_2 , $b_1.b_2$) ou por, mesmo não sendo significantes a 95% de confiança, auxiliarem na previsão do modelo contribuindo para valores de R^2 e R^2 ajustado adequados (b_3 , $b_2.b_3$, $b_1.b_3$, $b_1.b_2.b_3$). O coeficiente que contribuiu para maior aproximação da cor da mistura à do corante artificial foi a mistura binária de curcumina encapsulada e extrato de hibisco ($b_1.b_2$) (Figura 9), resultado semelhante ao comportamento determinado para o mesmo corante em tampão fosfato.

Por fim, para a avaliação da diferença de cor entre a mistura dos corantes naturais e a tartrazina, aplicados em iogurte natural, notou-se que o modelo apresenta-se adequado para a descrição dos dados experimentais de diferença de cor em função da regressão significativa e por não apresentar falta de ajuste. Com os coeficientes apresentados na Tabela 8 percebe-se que todos os fatores foram mantidos no modelo, sendo significativos b_1 , b_2 , e $b_1.b_2$, e somente contribuindo para a previsão do modelo b_3 , $b_1.b_3$, $b_2.b_3$, $b_1.b_2.b_3$. No caso do modelo previsto para a aplicação em iogurte, diferente dos modelos determinados para aplicação nos tampões, o fator do extrato de espirulina puro (b_3) não foi significativo. O fator de interação $b_1.b_2$ apresentou significância (Figura 9), assim como no modelo determinado para o mesmo sistema em tampão fosfato, o que não ocorreu para o tampão citrato. Segundo Lestari; Indrayanto (2014) a curcumina apresenta coloração amarela em soluções com pH entre 1,0-7,0, o tampão de fosfato e o iogurte possuem o pH nessa faixa. Para Março (2009) as antocianinas, compostos que conferem cor ao hibisco, em soluções aquosas, apresentam diferentes estruturas em função

do pH. Com pH aproximadamente 6,0, esses compostos vão perdendo a cor até se tornarem praticamente incolores. Com isso, prevaleceu a coloração da curcumina apresentado maior equivalência à cor do corante tartrazina.

Os resultados obtidos com os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) de todas as amostras avaliadas no planejamento de mistura, bem como dos corantes artificiais em todos os meios (tampões citrato, fosfato e iogurte) foram submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA). Inicialmente foi determinado o número de componentes principais necessárias para a representação das amostras no novo espaço dimensional. O resultado obtido está apresentado na Figura 10 onde a variância explicada de 99,21% é alcançada com 3 componentes principais (PCs). Então foram selecionadas 3 PCs para realização das análises.

Figura 10 - Variância explicada dos dados experimentais de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) de todas as amostras avaliadas no planejamento de mistura, bem como dos corantes artificiais em todos os meios (tampões citrato, fosfato e iogurte).

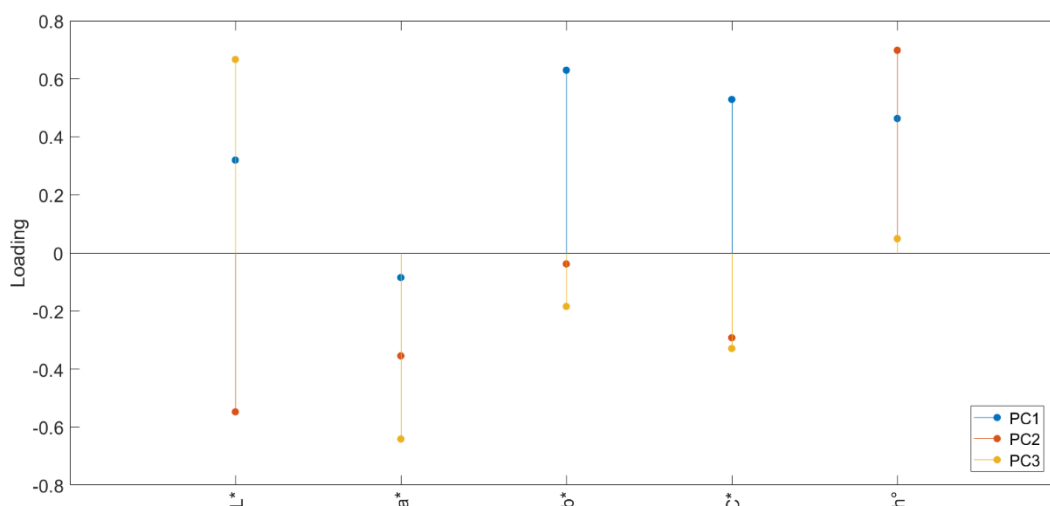


Fonte: Autoria própria (2021).

Na Figura 11 está apresentado o *biplot* (gráfico de *scores* e *loadings*) do conjunto de dados no espaço dimensional das PCs 1 e 2. Ainda na Figura 8, foram inseridas imagens referentes aos corantes aplicados nos meios (obtidos das Figuras 7, 8 e 9).

vermelha, sendo que estes pontos experimentais apresentaram ângulo de hue menor que 10 e alinhamento a 180° com relação ao vetor que descreve este parâmetro. Na Figura 9, que apresenta os *loadings* da PCA, é possível observar que o parâmetro a^* é influenciado principalmente pelo quadrante negativo das componentes em questão (PC1 e PC2). Além disso o vetor que representa o parâmetro a^* está alinhado com o grupo de amostras circulado em vermelho, indicando que as amostras deste grupamento possuem coloração tendendo ao vermelho (valores positivos desse parâmetro indicam coloração avermelhada). Neste grupo, o ponto experimental que mais se aproximou do corante artificial vermelho morango foi o ponto 2 (100% extrato de hibisco).

Figure 12 - Loadings da análise de componentes principais dos dados de cor.



Fonte: Autoria própria (2021).

No grupo circulado em amarelo (Figura 11) observa-se que todas as formulações apresentam coloração amarelada (ângulo de hue acima de 80°), pois estão diretamente alinhadas ao vetor b^* . Percebe-se ainda no mesmo grupo que os corantes artificiais (tartrazina, amarelo damasco e amarelo gema) estão alinhados a valores positivos de croma e ângulo de hue. O croma oferece a informação em relação à saturação ou intensidade da cor (LAWLESS; HEYMANN, 1998); (MALHEIROS, 2007). A saturação está ligada diretamente à concentração do elemento corante e representa um tributo quantitativo para intensidade. Quanto maior o croma, maior a saturação das cores perceptíveis aos olhos humanos. Cores neutras possuem baixa saturação, enquanto cores puras possuem alta saturação e, portanto, mais brilhantes na

percepção humana. O ângulo de hue é um atributo qualitativo, como a definição de avermelhado, esverdeado, etc (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). Além disso, nota-se ainda neste grupo que os corantes artificiais quando aplicados em iogurte (pH 4) apresentaram valores de maior luminosidade.

Neste grupamento caracterizado pela coloração amarelada, os pontos experimentais dos corantes naturais que mais se aproximaram dos atributos dos corantes artificiais aplicados em pH 4 foram os pontos 1 (100% curcumina) e 3 (90% curcumina e 10% extrato de espirulina). Já no caso da tartrazina quando aplicada em tampão citrato (pH3) e fosfato (pH 6,9) a maior aproximação determinada foi para a curcumina encapsulada a 100% (ponto experimental 1) em pH 3. O amarelo damasco em pH 6,9 apresentou semelhança com o ponto experimental 6 em pH 3 (95% curcumina encapsulada e 5% espirulina). Para o corante amarelo gema nos dois tampões (pHs 3 e 6,9) a amostra natural que mais se aproximou foi o ponto 3 aplicado em pH 4.

No último grupo destacado em vermelho, podem ser identificados os corantes artificiais amarelo damasco, aplicado em tampão de pH 3 e o vermelho morango tanto em pH 3 quanto 6,9. Nota-se que as amostras compostas por somente extrato de hibisco (ponto 2) tanto em pH 3 quanto em pH 6,9 foram as que mais se aproximaram das características do corante vermelho morango para os dois pHs. Já para o corante amarelo damasco em pH 3, a amostra natural com maior proximidade foi a do ponto 7 (50% extrato de hibisco e 50% curcumina encapsulada) em pH 3.

A otimização e validação experimental foi realizada de acordo com a Tabela 9, que apresenta as composições otimizadas pelo algoritmo simplex com a descrição da composição das misturas otimizadas para cada corante artificial e meio aplicado. Como resposta otimizada foi utilizada a minimização da diferença de cor entre a mistura e o corante artificial.

Tabela 9 - Otimização e validação experimental das composições de mistura para minimização do ΔE^* com relação aos corantes artificiais.

Tampão Fosfato (pH 6,9)				
Extratos naturais	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
C	0,001	0,001	0,49	0,503
H	0,998	0,998	0,51	0,497
S	0,001	0,001	0	0
ΔE^*	29,758	30,022	9,954	23,844

ΔE^* exp	63,53	63,98	54,04	70,22
Tampão citrato (pH = 3,0)				
Extratos naturais	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
C	0,396	0,001	0,997	0,998
H	0,604	0,998	0,003	0,001
S	0	0,001	0	0,001
ΔE^*	30,882	24,324	18,616	9,258
ΔE^* exp	65,73	57,64	27,42	39,01
Iogurte (pH = 4,0)				
Extratos naturais	Amarelo Gema	Vermelho morango	Amarelo damasco	Tartrazina
C	0,746	0,001	0,792	0,799
H	0,254	0,998	0,207	0,2
S	0	0,001	0,001	0,001
ΔE^*	27,968	19,342	-3,194	-1,619
ΔE^* exp	48,36	49,84	57,42	33,90

Fonte: Autoria própria (2021).

Nota-se que houve uma grande diferença entre os valores de diferença de cor (ΔE^*) determinado através da otimização e os valores experimentais da validação. O menor valor encontrado entre ΔE^* otimizado e experimental foi para a mistura composta por curcumina encapsulada a 99,7% e extrato de hibisco a 0,3%, com relação ao corante artificial amarelo damasco em tampão citrato (pH 3,0). Tais diferenças podem ser explicadas pela composição do extrato de hibisco, uma vez que o extrato utilizado inicialmente para construção dos modelos experimentais não foi o mesmo usado na validação. Como as extrações foram realizadas com matérias primas adquiridas em datas diferentes não há garantia da manutenção da composição. Vale ressaltar que mesmo não havendo compatibilidade entre o valor experimental e otimizado, não há inviabilização da aplicação destes compostos como corantes naturais.

6 CONCLUSÕES

Os extratos de hibisco e espirulina, bem como a curcumina encapsulada foram aplicados com sucesso no iogurte e nos meios simulados de tampão citrato e fosfato para comparação com os corantes artificiais amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina. Os modelos experimentais mais adequados e compatíveis com os corantes artificiais foram obtidos no meio citrato e no iogurte. Isso deve ser devido ao pH do tampão citrato e do iogurte, que são 3,0 e 4,0 respectivamente. Ainda, quando presente nas misturas o extrato de espirulina levou a um escurecimento da cor nos meios testado, assim concluiu-se que os pontos experimentais do planejamento de misturas mais adequados para a aplicação, foram aqueles compostos por curcumina encapsulada e extrato de hibisco.

Com a avaliação dos dados experimentais aplicados em uma Análise de componentes principais observou-se a formação de 3 grupos de amostras. O primeiro grupo destacado, relaciona-se à coloração vermelha, em que estão localizadas as misturas mais semelhantes ao corante vermelho morango aplicado em iogurte. Outro grupo foi identificado com amostras de coloração amarela com similaridade aos corantes artificiais amarelo gema, amarelo damasco e tartrazina nos três meios avaliados. E no último grupo estão localizadas as amostras de mistura mais semelhantes ao corante vermelho morango aplicado em tampão citrato e fosfato.

Por fim, a otimização realizada para minimização da diferença de cor não teve sucesso na validação experimental, principalmente pela alteração da matéria prima de obtenção do extrato de hibisco, sendo diferentes fontes utilizadas na preparação dos modelos experimentais e na validação. Contudo vale ressaltar que apesar de discrepantes os resultados para este extrato, este ainda possui capacidade corante e maior benefício à saúde dos consumidos quando utilizado em substituição aos corantes artificiais.

REFERÊNCIAS

- AGHAJANI, A.; MORTAZAV, S.A.; YAZDI, F. T.; ZENOSIAN, M. S.; ASL, M. R. S. Color, microbiological and sensory properties of low-fat probiotic yogurt supplemented with *Spirulina platensis* and *Ferulago angulata* hydroalcoholic extracts during cold storage. p. 4738–12, 2018.
- AGUSTINI, T. W.; MA'RUF, W. F.; WIDATAY; SUZERY, M.; HADIYANTO; BENJAKUL, S. Application of *Spirulina platensis* on ice cream and soft cheese with respect to. **Jurnal Teknologi**, v. 2, p. 245–251, 2016.
- AK, T.; GÜLÇİN, I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. **Chemico-Biological Interactions**, v. 174, n. 1, p. 27–37, 2008.
- AKHTAR, M. J. et al. Antioxidant capacity and light-aging study of HPMC films functionalized with natural plant extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 4, p. 1150–1158, 2012.
- ALMEIDA, H. H. S. et al. Bioactive evaluation and application of different formulations of the natural colorant curcumin (E100) in a hydrophilic matrix (yogurt). **Food Chemistry**, v. 261, p. 224–232, 30 set. 2018.
- AMBROSI, M.A.; REINEHR, C.O.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.A.V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde de. p. 109–117, 2008.
- ANDERSON, T. M. D. Anticancer potential of curcumin (Review). **Anticancer research**, v. 398, p. 363–398, 2003.
- ANITHA, A. et al. Efficient water soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 452–461, 2011.
- ANVISA. **RESOLUÇÃO - CNNPA Nº 44, DE 1977**, 1977.
- ANVISA. Resolução nº 387, de 05 de agosto de 1999. n. March, p. 25–27, 1999.
- ARAÚJO, A. C. Obtenção e estabilidade de corante de antocianinas extraídas do repolho roxo (*Brassica oleracea*)^{ll}. v. 7, p. 1–25, 2018.
- BANIK, U. et al. Curcumin: the spicy modulator of breast carcinogenesis. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 36, n. 1, p. 98, 19 dez. 2017.
- BEHESHTIPOUR, H. et al. Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* algae into probiotic fermented milks. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 2, p. 144–154, 2013.
- BELAY, A. et al. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 2, p. 235–241, 1993.
- BORRÁS-LINARES, I. et al. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 385–394, 2015a.
- BORRÁS-LINARES, I. et al. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 385–394, 2015b.
- BORRIN, T. R. et al. Technological and sensory evaluation of pineapple ice creams incorporating curcumin-loaded nanoemulsions obtained by the emulsion inversion point method. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, n. 2, p. 491–500, 2018.
- BUCHWEITZ, M. **Natural Solutions for Blue Colors in Food**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2016.

- CARGNIN, M. A. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA Mariana Aguiar Cargnin. 2017.
- CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Natural food additives: Quo vadis? **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 284–295, 2015.
- CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; BUNNAG, B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina sp.*: Influence of temperature, pH and preservatives. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 659–664, 2012a.
- CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; BUNNAG, B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina sp.*: Influence of temperature, pH and preservatives. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 659–664, 2012b.
- CHR-HANSEN. **Naturally differentiate your brand.**
- CHUNG, K. T.; FULK, G. E.; EGAN, M. Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 558–562, 1978.
- COLLA, L. M. et al. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 7, p. 1489–1493, 2007.
- COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 59, n. 1–2, p. 55–59, 2004.
- DA SILVA, L. P. *Rubus ulmifolius* Schott: aspetos químicos, propriedades bioativas e desenvolvimento de um corante natural a partir dos seus frutos. 2018.
- DA SILVA, S. C. et al. Spray-dried *Spirulina platensis* as an effective ingredient to improve yogurt formulations: Testing different encapsulating solutions. **Journal of Functional Foods**, v. 60, n. June, 2019.
- DA-COSTA-ROCHA, I. et al. *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. **Food Chemistry**, v. 165, p. 424–443, 2014.
- DE MOURA, S. C. S. R. et al. Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. **Food Research International**, v. 121, n. December 2018, p. 542–552, 2019.
- DE SÁ, I. S. Nanoencapsulação de curcumina e avaliação ‘in vitro’ da atividade das enzimas ache, bchee gst em tecidos biológicos de *Drosophila melanogaster*. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2019.
- DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains — characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173–289, maio 2000.
- DERNER, R. B. et al. Microalgae, products and applications. **Ciencia Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959–1967, 2006.
- DEWI, E. N.; KURNIASIH, R. A.; PURNAMAYATI, L. The application of microencapsulated phycocyanin as a blue natural colorant to the quality of jelly candy. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 116, n. 1, 2018.
- DIKSHIT, R.; TALLAPRAGADA, P. **Comparative study of natural and artificial flavoring agents and dyes.** [s.l.] Elsevier Inc., 2018. v. 7
- DOREAU, M.; BAUCHART, D.; CHILLIARD, Y. Enhancing fatty acid composition of milk and meat through. **Differences**, v. 2009, n. September 2009, p. 19–29, 2011.

- EL-DESOUKI, N. I. et al. Improvement in beta-islets of Langerhans in alloxan-induced diabetic rats by erythropoietin and spirulina. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 71, p. 20–31, 2015.
- ELHKIM, M. O. et al. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine. An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 47, n. 3, p. 308–316, 2007.
- FEKETE, G.; TSABOURI, S. **Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality?** [s.l: s.n.]. v. 230
- FENG, J.; CERNIGLIA, C. E.; CHEN, H. Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota. **Physiology & behavior**, v. 176, n. 1, p. 139–148, 2018a.
- FENG, J.; CERNIGLIA, C. E.; CHEN, H. Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota. **Physiology & behavior**, v. 176, n. 1, p. 139–148, 2018b.
- FERREIRA, L. S. et al. Wet agglomeration by high shear of binary mixtures of curcumin-loaded lyophilized liposomes and cornstarch: Powder characterization and incorporation in cakes. **Food Bioscience**, v. 25, n. August, p. 74–82, 2018.
- FERRO, A. N. A. C. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná Curso De Engenharia De Alimentos Campus Campo Mourão - Paraná Gelatina comestível utilizando curcumina nanoencapsulada como corante natural. 2015.
- FORMAGIO, ASN. et al. Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 1, p. 69–76, 2015.
- FUKUI, K. et al. Relationship between color development and protein conformation in the phycocyanin molecule. **Dyes and Pigments**, v. 63, n. 1, p. 89–94, 2004.
- GABR, G. A.; EL-SAYED, S. M.; HIKAL, M. S. Antioxidant activities of phycocyanin: A bioactive compound from *Spirulina platensis*. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 32, n. 2, p. 73–85, 2020.
- GARCEA, G. et al. Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: Assessment of curcumin levels in the colorectum and their pharmacodynamic consequences. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 14, n. 1, p. 120–125, 2005.
- GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **Lwt**, v. 64, n. 2, p. 645–649, 2015.
- GHALANDARLAKI, N.; ALIZADEH, A. M.; ASHKANI-ESFAHANI, S. Nanotechnology-applied curcumin for different diseases therapy. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.
- GILDA, S. et al. Activity of water-soluble turmeric extract using hydrophilic excipients. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 59–66, 2010.
- GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “Curcumin”: From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 787–809, 2008a.
- GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “Curcumin”: From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 787–809, 2008b.
- GOMES, K. M. S. et al. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and Tartrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 218–223, 2013.
- GONÇALVES, P. C.; LOFRANO, R. C. Z. Coloração de biopolímero biodegradável utilizando-se corantes naturais betanina e curcumina. p. 51–56, 2018.

- GULDIKEN, B.; BOYACIOGLU, D.; CAPANOGLU, E. Optimization of Extraction of Bioactive Compounds from Black Carrot Using Response Surface Methodology (RSM). **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 7, p. 1876–1886, 2016.
- GÜROY, B. et al. Spirulina as a natural carotenoid source on growth, pigmentation and reproductive performance of yellow tail cichlid *Pseudotropheus acei*. **Aquaculture International**, v. 20, n. 5, p. 869–878, 2012.
- HANDA, C. L. et al. Multi-response optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, v. 197, p. 175–184, 15 abr. 2016.
- HATCHER, H. et al. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 11, p. 1631–1652, 2008.
- IFC-SOLUTIONS. **Custom Food Colorants**.
- İLTER, I. et al. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using different techniques. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 70, n. August 2017, p. 78–88, 2018.
- JABEUR, I. et al. *Hibiscus sabdariffa* L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. **Food Research International**, v. 100, p. 717–723, 2017.
- JÚNIOR, C. S. CASCA DE GOGOIA (*Tacinga inamoena*): FONTE DE CORANTES NATURAIS. **Mathematics Education Journal**, v. 1, n. 1, p. 75, 2018.
- JÚNIOR, M. M. et al. Substitution of synthetic antioxidant by curcumin microcrystals in mortadella formulations. **Food Chemistry**, v. 300, n. July, p. 125231, 2019.
- KAEWNOPPARAT, N. et al. Increased solubility, dissolution and physicochemical studies of curcumin- polyvinylpyrrolidone K-30 solid dispersions nattha. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 55, p. 229–234, 2009.
- KHAN, W. H.; RATHOD, V. K. Process intensification approach for preparation of curcumin nanoparticles via solvent-nonsolvent nanoprecipitation using spinning disc reactor. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 80, p. 1–10, 2014.
- KHIRALLA, G. M.; SALEM, S. A.; EL-MALKY, W. A. Effect of natural and synthetic food coloring agents on the balance of some hormones in rats. n. April, 2015.
- KRIGGER, S. P. Obtenção e aplicação de microcápsulas de betalaínas extraídas da pitaya vermelha como corante natural em iogurtes e avaliação da estabilidade através de imagens digitais Porto. **IEEE Transactions on Software Engineering**, v. 24, n. 4, p. 233–244, 2019.
- KUMAVAT, S. D. et al. International journal of pharmaceutical & research sciences characterization and evaluation of curcumin - PVP solid dispersion by solvent evaporation technique original research article. v. 2, n. 5, p. 693–706, 2013.
- LAURINDO, J. B. et al. Experimental determination of the dynamics of vacuum impregnation of apples. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 8, p. 470–475, 2007.
- LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: Principles and practices**. [s.l: s.n.].
- LEE, W. J.; LUCEY, J. A. Impact of gelation conditions and structural breakdown on the physical and sensory properties of stirred yogurts. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2374–2385, 2006.
- LEIMANN, F. V et al. Heat and pH stable curcumin-based hydrophylic colorants obtained by the solid dispersion technology assisted by spray-drying. **Chemical Engineering Science**, v. 205, p. 248–258, 2019.

- LEO, L. et al. Occurrence of azo food dyes and their effects on cellular inflammatory responses. **Nutrition**, v. 46, p. 36–40, 2018.
- LESTARI, M. L. A. D.; INDRAYANTO, G. **Curcumin**. [s.l.: s.n.]. v. 39
- LUPATINI MENEGOTTO, A. L. et al. Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. **Lwt**, v. 114, n. June, p. 108267, 2019.
- MA, C. et al. Content and color stability of anthocyanins isolated from *Schisandra chinensis* fruit. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 11, p. 14294–14310, 2012.
- MAHESHWARI, R. K. et al. Multiple biological activities of curcumin: A short review. **Life Sciences**, v. 78, n. 18, p. 2081–2087, 2006.
- MALHEIROS, G. C. Estudo da alteração da cor e degradação da clorofila durante armazenagem de Erva-Mate tipo chimarrão. p. 104, 2007.
- MARCHI, J. P. et al. Mediciniais. **Arquivos de Ciência da Saúde da UNIPAR**, v. 20, n. 44, p. 189–94, 2016.
- MARÇO, P. H. Estudo da influência da radiação e pH no comportamento cinético de antocianinas de plantas do gênero *Hibiscus* por métodos quimiométricos. p. 214, 2009a.
- MARÇO, P. H. Estudo da influência da radiação e pH no comportamento cinético de antocianinas de plantas do gênero *Hibiscus* por métodos quimiométricos. p. 214, 2009b.
- MARCOLINO, V. A.; DURRANT, L. R. Inclusão de bixina, curcumina e betanina em ciclodextrina para aplicação na Indústria de Alimentos. 2008.
- MARTA, M. et al. Application of multi-block analysis and mixture design with process variable for development of chocolate cake containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and maca (*Lepidium meyenii*). 2017.
- MARTINS, N.; RORIZ, C. L.; MORALES, P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Food colorants: challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. **CIMO - Artigos em Revistas Indexados à WoS/Scopus**, v. (5)2, n. 2, p. 285–299, 2016.
- MASONE, D.; CHANFORAN, C. Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: a computational point of view. 2015.
- MATA-RAMÍREZ, D. et al. Phytochemical profiles, dietary fiber and baking performance of wheat bread formulations supplemented with Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 12, n. 4, p. 2657–2665, 2018.
- MCCANN, D. et al. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 370, n. 9598, p. 1560–1567, 2007.
- MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254–1255, 1992.
- MEDHAT, R. et al. Protective effect of *Spirulina platensis* on cyclophosphamide-induced toxicity in experimental mice. **Journal of Cancer and Biomedical Research**, v. 1, n. 3, p. 1–12, 2019.
- MINOLTA, K. Identifying Color Differences Using L*a*b* or L*C*H* Coordinates. 2020.
- MOHAMMADI-GOURAJI, E.; SOLEIMANIAN-ZAD, S.; GHIACI, M. Phycocyanin-enriched yogurt and its antibacterial and physicochemical properties during 21 days of storage. **Lwt**, v. 102, p. 230–236, 2019.
- MORAES, C. C. et al. C-Phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* wet biomass. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 1, p. 45–49, 2011.

- MOREIRA, I. DE O. et al. Colour evaluation of a phycobiliprotein-rich extract obtained from *Nostoc PCC9205* in acidic solutions and yogurt. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 3, p. 598–605, 2012.
- MOREIRA, S. et al. Atividade antioxidante de urucum (*Bixa orellana* L.) ‘in natura’ e encapsulado. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 15, n. 2, p. 201–209, 2014.
- MOURA, S. C. S. R. Caracterização, perfil de liberação (‘in Vitro’) e aplicação de micropartículas contendo antocianinas do Hibisco (*Hibiscus Sabdariffa* L.), obtidas por caracterização, perfil de liberação (‘in Vitro’) e aplicação de micropartículas contendo Antocianinas. **Universidade Estadual de Campinas**, p. 213, 2018a.
- MOURA, S. C. S. R. Caracterização, perfil de liberação (‘in Vitro’) e aplicação de micropartículas contendo antocianinas do hibisco (*Hibiscus Sabdariffa* L.), obtidas por caracterização, perfil de liberação (‘in Vitro’) e aplicação de micropartículas contendo antocianina. **Universidade Estadual de Campinas**, p. 213, 2018b.
- MOZAFARI, M. R.; FLANAGAN, J.; MATIA-MERINO, L.; AWATI, A.; OMRI, A.; SUNTRES, Z.; SINGH, H. Effect of phytate and storage conditions on the development of the ‘hard-to-cook.’ **Journal of the science of food and agriculture**, v. 1243, n. May, p. 1237–1243, 2007.
- NICCOLAI, A. et al. Development of new microalgae-based sourdough “crostini”: functional effects of *Arthrospira platensis* (spirulina) addition. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019.
- NOVIATRI, A.; SETIANINGRUM, A.; HASKITO, A. E. P. Organoleptic properties evaluation of purple *Hibiscus sabdariffa* L (Roselle) calyx extract-fortified yogurt. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1430, n. 1, 2020.
- NUNES, M. C. et al. Microalgal cell disruption: Effect on the bioactivity and rheology of wheat bread. **Algal Research**, v. 45, n. June 2019, 2020.
- OLIVEIRA, C. A. et al. Potencial nutricional, funcional e terapêutico da cianobactéria spirulina. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**, v. 5, n. 1, p. 52–59, 2013.
- OLIVEIRA FILHO, J. F. DE. Extração de corante natural a partir do resíduo da uva. p. 45, 2017.
- OTÁLORA, M. C. et al. Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 187, p. 174–181, 2015.
- PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 5, p. 270–278, 2009.
- PARI, L.; TEWAS, D.; ECKEL, J. Role of curcumin in health and disease. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 114, n. 2, p. 127–149, 2008.
- PARK, J.; CONTEAS, C. N. Anti-carcinogenic properties of curcumin on colorectal cancer. **World Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 2, n. 4, p. 169, 2010.
- PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 36–60, 2013.
- PETROPOULOS, S. A. et al. Grown to be Blue-Antioxidant properties and health effects of colored vegetables. Part I: Root Vegetables. **Antioxidants**, v. 8, p. 1–26, 2019.
- PIMENTEL-MORAL, S. et al. Microwave-assisted extraction for *Hibiscus sabdariffa* bioactive compounds. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 156, p. 313–322, 2018a.

- PIMENTEL-MORAL, S. et al. Microwave-assisted extraction for *Hibiscus sabdariffa* bioactive compounds. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 156, p. 313–322, 2018b.
- PISOSCHI, A. M. et al. Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity - A critical view. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 1326–1345, 2018.
- PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 268–273, 2007a.
- PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 268–273, 2007b.
- PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of micro algae – A review. v. 3, n. 4, p. 89–100, 2012.
- RAO, P. V.; BARAL, S. S. Experimental design of mixture for the anaerobic co-digestion of sewage sludge. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, n. 2–3, p. 977–986, ago. 2011.
- RASHEED, D. M. et al. Comparative analysis of *Hibiscus sabdariffa* (roselle) hot and cold extracts in respect to their potential for α -glucosidase inhibition. **Food Chemistry**, v. 250, n. July 2017, p. 236–244, 2018.
- RÊGO, T. DE F. et al. Expectativas de retorno e riscos percebidos no agronegócio corante natural de caju para o mercado B2B. **Custos e @gronegócios**, v. 11, n. 2, p. 370–400, 2015.
- RIAZ, G.; CHOPRA, R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 102, n. March, p. 575–586, 2018.
- RORIZ, C. L. et al. *Gomphrena globosa* L. como fonte de corantes naturais: caracterização em betacianidinas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. SP, p. S151–S154, 2017.
- SAHNOUN, S. et al. Adsorption of tartrazine from an aqueous solution by octadecyltrimethylammonium bromide-modified bentonite: Kinetics and isotherm modeling. **Comptes Rendus Chimie**, v. 21, n. 3–4, p. 391–398, 2018.
- SALVATORI, D. et al. The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. **Journal of Food Process Engineering**, v. 21, n. 1, p. 59–73, 1998.
- SANTO, E. F. DO E. et al. Comparison between freeze and spray drying to obtain powder *Rubrivivax gelatinosus* biomass. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 47–51, 2013.
- SANTOS, P. D. F. Extração de curcuminoides e obtenção ‘in situ’ de nanopartículas. v. 7, p. 1–25, 2018a.
- SANTOS, P. D. F. Extração de curcuminoides e obtenção ‘in situ’ de nanopartículas. v. 7, p. 1–25, 2018b.
- SCHUMANN, S. P. A.; POLÔNIO, M. L. T.; DE ANDRADE GONÇALVES, É. C. B. Avaliação do consumo de corantes artificiais por lactentes, pré-escolares e escolares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 534–539, 2008.
- SILVA, A. B. DA; WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H. C. Compostos químicos e atividade antioxidante analisados em *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, n. 0, 2016.
- SILVA, A. C. DA et al. Production and characterization of curcumin microcrystals and evaluation of the antimicrobial and sensory aspects in minimally processed carrots. **Food and Function**, v. 8, n. 5, p. 1851–1858, 2017.
- SILVA, R. F. G. DA. **Planejamento de misturas aplicado ao desenvolvimento de corantes naturais**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2019.

- SILVEIRA, S. T. et al. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 8, p. 1629–1634, 1 maio 2007.
- SINELA, A. et al. Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. **Food Chemistry**, v. 214, p. 234–241, 2017.
- SOUZA, J. P. B. Análise térmica de polímero Dgeba (Diglicidil Éter de Bisfenol A) e sua influência na Resistência de Juntas. p. 78, 2012.
- STAN, C. General Standard for food additives. **ISSN 2502-3632 (Online) ISSN 2356-0304 (Paper) Jurnal Online Internasional & Nasional Vol. 7 No.1, Januari – Juni 2019 Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2019.
- SU, N. et al. Effect of the addition of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts on the rheological, textural, and antioxidant activity of fermented milks. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 35, n. 1, p. 42–50, 2020.
- SUETSUNA, K.; CHEN, J. R. Identification of antihypertensive peptides from peptic digest of two microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. **Marine Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 305–309, 2001.
- SUN, W. et al. Construction and characterization of curcumin nanoparticles system. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 16, n. 3, 2014.
- TANG, B. et al. Simultaneous determination of 16 synthetic colorants in hotpot condiment by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 960, p. 87–91, 2014.
- THORAT, A. A.; DALVI, S. V. Particle formation pathways and polymorphism of curcumin induced by ultrasound and additives during liquid antisolvent precipitation. **Cryst Eng Comm**, v. 16, n. 48, p. 11102–11114, 2014.
- TROMBETE, F. M. Extrato de bixina de sementes de Urucum como corante natural na formulação de pipoca de micro-ondas: Avaliação sensorial e efeitos em determinados parâmetros de qualidade. **Holos**, v. 6, p. 1–14, 2020.
- VIANA, K. W. C. et al. Study of adsorption isotherms and physicochemical characterization of natural food colourants. **Food Science and Technology**, v. 39, n. suppl 1, p. 74–80, 2019.
- YEN, F. L. et al. Curcumin nanoparticles improve the physicochemical properties of curcumin and effectively enhance its antioxidant and antihepatoma activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 12, p. 7376–7382, 2010.
- ZHAO, X. et al. Effect of vacuum impregnated fish gelatin and grape seed extract on metabolite profiles of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets during storage. **Food Chemistry**, v. 293, n. January, p. 418–428, 2019.
- ZHENG, J. et al. Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, n. 2, p. R110–R120, 15 jan. 2013.
- ZLATEVA, D.; CHOCHKOV, R. Effect of *Spirulina platensis* on the crumb firming of wheat bread during storage. **Ukrainian Food Journal**, v. 8, n. 4, p. 851–860, 2019.

APÊNDICE

Apêndice A - Resultados determinados para os parâmetros de cor dos corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina) no meio tampão fosfato (ph = 6,9) e diferença de cor calculada com os dados do planejamento experimental *simplex-centroide* realizados por (SILVA, 2019).

Amarelo gema				
a* = 38,52 ± 1,56; b* = 47,29 ± 2,60; L* = 31,64 ± 3,45				
EXP	a*	b*	L*	ΔE*
1	16,46	15,76	12,56	42,95
2	29,57	21,87	17,83	30,28
3	8,54	11,93	8,63	51,75
4	13,98	8,96	13,88	48,85
5	24,25	17,03	16,45	36,74
6	18,44	14,54	9,79	44,19
7	5,24	46,63	32,47	33,29
8	3,51	22,81	16,25	45,40
9	4,27	32,86	23,61	38,02
9'	5,91	24,77	18,05	41,89
Vermelho morango				
a* = 39,89 ± 2,45; b* = 46,76 ± 1,67; L* = 31,97 ± 2,95				
EXP	a*	b*	L*	ΔE*
1	16,46	15,76	12,56	43,43
2	29,57	21,87	17,83	30,42
3	8,54	11,93	8,63	52,35
4	13,98	8,96	13,88	49,26
5	24,25	17,03	16,45	37,00
6	18,44	14,54	9,79	44,61
7	5,24	46,63	32,47	34,65
8	3,51	22,81	16,25	46,30
9	4,27	32,86	23,61	39,13
9'	5,91	24,77	18,05	42,80
Amarelo damasco				
a* = 11,63 ± 2,87; b* = 48,69 ± 2,11; L* = 36,76 ± 1,55				
EXP	a*	b*	L*	ΔE*

1	16,46	15,76	12,56	41,13
2	29,57	21,87	17,83	37,39
3	8,54	11,93	8,63	46,37
4	13,98	8,96	13,88	45,89
5	24,25	17,03	16,45	39,65
6	18,44	14,54	9,79	44,02
7	5,24	46,63	32,47	7,95
8	3,51	22,81	16,25	33,98
9	4,27	32,86	23,61	21,83
9'	5,91	24,77	18,05	30,88

Tartrazina

$$a^* = 11,86 \pm 2,51; b^* = 61,02 \pm 1,01; L^* = 46,81 \pm 2,21$$

EXP	a*	b*	L*	ΔE^*
1	16,46	15,76	12,56	56,94
2	29,57	21,87	17,83	51,82
3	8,54	11,93	8,63	62,27
4	13,98	8,96	13,88	61,63
5	24,25	17,03	16,45	54,86
6	18,44	14,54	9,79	59,78
7	5,24	46,63	32,47	21,36
8	3,51	22,81	16,25	49,63
9	4,27	32,86	23,61	37,26
9'	5,91	24,77	18,05	46,65

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice B - Resultados determinados para os parâmetros de cor dos corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina) no meio tampão citrato (ph = 3,0) e diferença de cor calculada com os dados do planejamento experimental simplex-centroide realizados por (SILVA, 2019).

Amarelo gema				
$a^* = 31,98 \pm 1,45; b^* = 49,91 \pm 2,15; L^* = 31,98 \pm 1,55$				
EXP	a^*	b^*	L^*	ΔE^*
1	10,26	68,67	50,6	39,29
2	30,56	22,15	16,43	33,00
3	5,9	48,68	33,78	33,51
4	19,39	13,29	12,75	45,92
5	22,05	15,08	13,31	43,13
6	9,64	46,88	32,62	29,86
7	13,42	38,37	25,5	29,10
8	8,53	32,16	22,34	36,84
9	10,58	31,04	20,12	36,38
9'	15,66	28,81	19,22	32,55

Vermelho morango				
$a^* = 39,23 \pm 1,82; b^* = 36,13 \pm 2,75; L^* = 33,52 \pm 2,24$				
EXP	a^*	b^*	L^*	ΔE^*
1	10,26	68,67	50,06	46,79
2	30,56	22,15	16,43	23,72
3	5,9	48,68	33,78	35,61
4	19,39	13,29	12,75	36,69
5	22,05	15,08	13,31	33,86
6	9,64	46,88	32,62	31,49
7	13,42	38,37	25,5	27,11
8	8,53	32,16	22,34	32,91
9	10,58	31,04	20,12	32,03
9'	15,66	28,81	19,22	28,52

Amarelo damasco				
$a^* = 12,10 \pm 0,08; b^* = 49,62 \pm 1,35; L^* = 36,88 \pm 2,55$				
EXP	a^*	b^*	L^*	ΔE^*
1	10,26	68,67	50,06	23,54
2	30,56	22,15	16,43	38,90
3	5,9	48,68	33,78	6,99
4	19,39	13,29	12,75	44,21
5	22,05	15,08	13,31	42,98

6	9,64	46,88	32,62	5,63
7	13,42	38,37	25,5	16,05
8	8,53	32,16	22,34	23,00
9	10,58	31,04	20,12	25,06
9'	15,66	28,81	19,22	27,52

Tartrazina

$$a^* = 12,47 \pm 1,36; b^* = 62,45 \pm 2,25; L^* = 47,57 \pm 1,20$$

EXP	a*	b*	L*	ΔE^*
1	10,26	68,67	50,06	7,26
2	30,56	22,15	16,43	54,04
3	5,9	48,68	33,78	20,56
4	19,39	13,29	12,75	60,63
5	22,05	15,08	13,31	59,24
6	9,64	46,88	32,62	21,77
7	13,42	38,37	25,5	32,67
8	8,53	32,16	22,34	39,61
9	10,58	31,04	20,12	41,75
9'	15,66	28,81	19,22	44,10

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice C - Resultados determinados para os parâmetros de cor dos corantes artificiais (amarelo gema, amarelo damasco, vermelho morango e tartrazina) no meio iogurte (ph = 4,0) e diferença de cor calculada com os dados do planejamento experimental *simplex-centroide* realizados por (SILVA, 2019).

Amarelo gema				
$a^* = 43,70 \pm 2,03$; $b^* = 85,38 \pm 1,75$; $L^* = 55,95 \pm 2,26$				
EXP	a^*	b^*	L^*	ΔE^*
1	12,58	91,29	68,23	33,97
2	23,05	3,65	61,53	84,48
3	1,48	78,56	60,69	43,02
4	14,75	1,19	57,1	89,03
5	18,9	1,96	58,88	87,07
6	5,64	82,72	65,33	39,28
7	10,4	83,62	65,13	34,58
8	0,04	72,77	60,35	45,65
9	4,52	78,82	61,3	40,08
9'	4,81	76,64	62,5	40,39

Vermelho morango				
$a^* = 41,02 \pm 1,57$; $b^* = 8,75 \pm 1,06$; $L^* = 57,32 \pm 2,63$				
EXP	a^*	b^*	L^*	ΔE^*
1	12,58	91,29	68,23	87,98
2	23,05	3,65	61,53	19,14
3	1,48	78,56	60,69	80,30
4	14,75	1,19	57,1	27,33
5	18,9	1,96	58,88	23,19
6	5,64	82,72	65,33	82,38
7	10,4	83,62	65,13	81,26
8	0,04	72,77	60,35	76,07
9	4,52	78,82	61,3	79,10
9'	4,81	76,64	62,5	77,11

Amarelo damasco				
$a^* = 21,10 \pm 1,03$; $b^* = 90,21 \pm 2,33$; $L^* = 70,91 \pm 1,06$				
EXP	a^*	b^*	L^*	ΔE^*
1	12,58	91,29	65,23	2,92
2	23,05	3,65	61,53	87,75
3	1,48	78,56	60,69	18,78
4	14,75	1,19	57,1	90,12

5	18,9	1,96	58,88	89,32
6	5,64	82,72	65,33	11,35
7	10,4	83,62	65,13	8,92
8	0,04	72,77	60,35	23,68
9	4,52	78,82	61,3	16,71
9'	4,81	76,64	62,5	17,55

Tartrazina

$a^* = 10,93 \pm 2,89$; $b^* = 92,65 \pm 3,02$; $L^* = 71,56 \pm 3,01$

EXP	a*	b*	L*	ΔE^*
1	12,58	91,29	65,23	3,96
2	23,05	3,65	61,53	90,37
3	1,48	78,56	60,69	20,14
4	14,75	1,19	57,1	92,67
5	18,9	1,96	58,88	91,91
6	5,64	82,72	65,33	12,86
7	10,4	83,62	65,13	11,09
8	0,04	72,77	60,35	25,28
9	4,52	78,82	61,3	18,37
9'	4,81	76,64	62,5	19,38

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice D - análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever Δe^* entre o corante artificial amarelo gema e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato (ph 6,9).

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab (5%)}	p-valor
Regressão	395,2962	5	79,0592	19,3289	6,2561	0,006638
Resíduo	16,3608	4	4,0902			
Falta de ajuste	8,863	3	2,9543	0,3940	215,7073	0,790612
Erro puro	7,498	1	7,4979			
Total	411,657	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; F_{calc}- valor de F calculado; F_{tab}- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%.

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice E - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever Δe^* entre o corante artificial vermelho morango e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab (5%)}	p-valor
Regressão	388,0502	4	97,0126	23,1115	5,1922	0,002011
Resíduo	20,9879	5	4,1976			
Falta de ajuste	14,282	4	3,5705	0,5325	224,5832	0,757574
Erro puro	6,706	1	6,7058			
Total	409,038	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; F_{calc}- valor de F calculado; F_{tab}- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice F - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever Δe^* entre o corante artificial amarelo damasco e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab (5%)}	p-valor
Regressão	1258,0170	6	209,6695	10,6104	8,9406	0,039548

Resíduo	59,2820	3	19,7607			
Falta de ajuste	18,365	2	9,1825	0,2244	199,5000	0,830788
Erro puro	40,917	1	40,9170			
Total	1317,299	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice G - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial tartrazina e as misturas de corantes naturais em tampão fosfato.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab (5%)	p-valor
Regressão	1369,0760	4	97,0126	55,9957	5,1922	0,037934
Resíduo	80,9020	5	16,1804			
Falta de ajuste	36,844	4	9,2110	0,2091	224,5832	0,905999
Erro puro	44,058	1	44,0580			
Total	1449,978	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice H - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo gema e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab (5%)	p-valor
Regressão	225,9453	5	45,1891	3,8144	6,2561	0,109460
Resíduo	47,3873	4	11,8468			
Falta de ajuste	40,054	3	13,3514	1,8207	215,7073	0,487635
Erro puro	7,333	1	7,3332			
Total	273,333	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice I - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial vermelho morango e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab (5%)}	p-valor
Regressão	279,7798	4	69,9450	4,6283	5,1922	0,061896
Resíduo	75,5619	5	15,1124			
Falta de ajuste	69,396	4	17,3489	2,8135	224,5832	0,416845
Erro puro	6,166	1	6,1663			
Total	355,342	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; F_{calc}- valor de F calculado; F_{tab}- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%
Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice J - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo damasco e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab (5%)}	p-valor
Regressão	1577,5210	5	315,5042	12,7701	6,2561	0,014319
Resíduo	98,8260	4	24,7065			
Falta de ajuste	95,809	3	31,9363	10,5855	215,7073	0,221328
Erro puro	3,017	1	3,0170			
Total	1676,347	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; F_{calc}- valor de F calculado; F_{tab}- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%
Fonte: Autoria própria (2020).

APÊNDICE K - Análise de regressão (ANOVA) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial tartrazina e as misturas de corantes naturais em tampão citrato.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab (5%)}	p-valor
Regressão	2791,7600	4	697,9400	147,8247	5,1922	0,000022

Resíduo	23,6070	5	4,7214			
Falta de ajuste	20,843	4	5,2108	1,8852	224,5832	0,493231
Erro puro	2,764	1	2,7640			
Total	2815,367	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%
Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice L - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo gema e as misturas de corantes naturais em iogurte.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab (5%)	p-valor
Regressão	4812,7240	4	1203,1810	9579,466	5,1922	0,00000
Resíduo	0,6280	5	0,1256			
Falta de ajuste	0,580	4	0,1450	3,0208	224,5832	0,404133
Erro puro	0,048	1	0,0480			
Total	4813,352	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%
Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice M - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever o (ΔE^*) entre o corante artificial vermelho morango e as misturas de corantes naturais em iogurte.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab (5%)	p-valor
Regressão	7036,8670	4	1759,2168	2423,831	5,1922	000000
Resíduo	3,6290	5	0,7258			
Falta de ajuste	1,649	4	0,4123	0,2082	224,5832	0,906470
Erro puro	1,980	1	1,9800			
Total	7040,496	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%

Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice N - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante artificial amarelo damasco e as misturas de corantes naturais em iogurte.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab (5%)	p-valor
Regressão	12039,5900	6	2006,5983	14002,77	8,9406	0,000001
Resíduo	0,4300	3	0,1433			
Falta de ajuste	0,080	2	0,0400	0,1143	199,5000	0,902194
Erro puro	0,350	1	0,3500			
Total	12040,020	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%.
Fonte: Autoria própria (2020).

Apêndice O - Análise de regressão (anova) para o modelo matemático determinado para descrever ΔE^* entre o corante tartrazina e as misturas de corantes naturais em iogurte.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	Fcalc	Ftab (5%)	p-valor
Regressão	12362,3500	6	2060,3917	11446,62	8,9406	0,000001
Resíduo	0,5400	3	0,1800			
Falta de ajuste	0,030	2	0,0150	0,0294	199,5000	0,971825
Erro puro	0,510	1	0,5100			
Total	12362,890	9				

SQ- Soma dos quadrados; GL- Graus de liberdade; QM- Média dos quadrados; Fcalc- valor de F calculado; Ftab- valor de F tabelado considerando um nível de confiança de 95%; p-valor a um nível de confiança de 95%.
Fonte: Autoria própria (2020).

