

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

KATHLYN SCHAFRANSKI

**EXTRAÇÃO E ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS DO REPOLHO
ROXO (*Brassica oleracea*)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2016

KATHLYN SCHAFRANSKI

**EXTRAÇÃO E ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS DO REPOLHO
ROXO (*Brassica oleracea*)**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado a disciplina de Trabalho de Diplomação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos do Departamento Acadêmico de Tecnologia em Alimentos- DAALM- da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sabrina Ávila Rodrigues

PONTA GROSSA

2016



FOLHA DE APROVAÇÃO

Extração e Estabilidade de Antocianinas do Repolho Roxo (*Brassica oleracea*)

por

Kathlyn Schafranski

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado às 15 horas do dia 04 de julho de 2016 no Laboratório de Lácteos como requisito parcial à obtenção do grau de Tecnólogo em Alimentos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR - Campus Ponta Grossa. A aluna foi arguida pela Banca de Avaliação abaixo assinados. Após deliberação, a Banca de Avaliação considerou o trabalho aprovado.

Prof.^a Msc. Simone Bowles
(Avaliador 1 - UTFPR)

Prof.^a Dr.^a Sabrina Ávila Rodrigues
(Orientadora - UTFPR)

Tecnóloga em Alimentos Luciana de Almeida
(Avaliador 2 - UTFPR)

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

Dedico este trabalho de conclusão de curso a minha família, em especial minha mãe Soeli Oliveira dos Santos e meu marido João Vieira Junior.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por segurar em minhas mãos.

Agradeço toda minha família pelo apoio e compreensão durante todos os anos de duração do curso de Tecnologia em Alimentos, em especial a minha mãe por ter me dado a vida e amor incondicional. Sempre me apoiou e me motivou a continuar nesta caminhada.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná -Campos Ponta Grossa e ao Departamento de Tecnologia em Alimentos pela oportunidade de realização deste curso.

A Prof.^a Dr.^a Sabrina Ávila Rodrigues, pela avaliação cuidadosa deste trabalho e pelas sugestões apresentadas para meu aprimoramento, além da excelente orientação.

Aos membros da banca examinadora pelas correções e sugestões apresentadas.

As minhas colegas de curso que fizeram esses anos serem mais simples e divertidos. Em especial as minhas colegas Daniela Souza, Jéssica Darck e Juliana Bogado.

A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado com êxito.

RESUMO

SCHAFRANSKI, Kathlyn. **Extração e estabilidade de antocianinas do repolho roxo (*Brassica oleracea*)**. 2016. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso- Departamento Acadêmico de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

As antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal. Dentre os vegetais ricos em antocianinas, o repolho roxo (*Brassica oleracea*) detém elevada concentração deste pigmento, tornando-se uma matéria prima apropriada para extração de corante natural. Porém as antocianinas degradam-se no decorrer da extração vegetal e na estocagem. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a extração de antocianinas a partir do repolho roxo, em diferentes pH, temperatura e solventes, além de avaliar sua estabilidade ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento. Para obtenção do corante foram utilizados diferentes solventes (álcool 25%, álcool 96% e acetona), com pH ajustado (4,0; 6,0), e temperaturas (25°C e 75°C) e mais um tratamento adicional (água, pH 5,0 à 50°C), as antocianinas obtidas foram comparadas a um corante sintético vermelho, avaliando-se a cor instrumental. As melhores condições de extração foram obtidas em álcool 25% e água, com pH 4,0 e 6,0 apresentaram maior coloração vermelha. Para avaliar a estabilidade dos pigmentos durante o armazenamento, foram selecionados os solventes água e álcool 25%, sendo realizadas leituras colorimétricas do parâmetro croma (C*) em relação ao padrão (amostra no tempo zero) a cada sete dias durante quatro semanas, armazenados sob diversas condições, como exposição a luz, escuro e presença ou ausência de oxigênio. Os extratos obtidos em álcool 25% nas condições de pH6,0/oxigênio/escuro obteve melhor desempenho, e maior saturação da cor, mantendo-se estável em 21 dias. Portanto o repolho roxo apresentou-se como uma fonte natural de corante vermelho em meio ácido.

Palavras-chave: Antocianinas. Corante natural. Estabilidade. Repolho roxo

ABSTRACT

SCHAFRANSKI, Kathlyn. **Extraction and stability of anthocyanin purple cabbage (*Brassica oleracea*)**. 2016. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso- Departamento Acadêmico de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

Anthocyanins make up the largest group of water-soluble pigments in the plant kingdom and it has been studied for being coloring agents natural food. Among the vegetables rich in anthocyanins, cabbage purple (*Brassica oleracea*) has a high concentration this pigment, and present low cost, making it a suitable raw material for extraction of a natural dye. However, anthocyanins degrade during the extraction vegetable and storage process. So the objective was evaluating the extraction of anthocyanins from cabbage purple, in different conditions of pH, temperature and solvent, besides assessing its stability over time under different conditions of storage. For obtaining dye were used different solvents (alcohol 25%, 96% alcohol and acetone), pH adjusted (4.0; 6.0) and temperatures (25 and 75C) and an additional treatment (water, pH 5,0 to 50 ° C), the anthocyanins obtained were compared to a red synthetic dye, evaluating the instrumental color. Best extraction efficiency was obtained in 25% alcohol and water, with pH 4.0 to 6.0 exhibited greater red coloration. To evaluate the stability of the pigment during storage, the solvents water and alcohol 25% were selected and performed colorimetric readings chroma parameter (C*) against the standard (sample at time zero) every seven days for four weeks, stored under different conditions such as exposure to light, dark, and the presence or absence of oxygen. The extracts obtained in 25% alcohol under the conditions of pH 6.0 / oxygen / dark obtained better performance, and higher color saturation, remaining stable at 21 days. So the red cabbage was presented as a natural source of red dye in an acid medium.

Keywords: Anthocyanins. Natural dye. Stability. Purple cabbage.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma representativo da estabilidade do extrato do repolho roxo em diferentes condições de armazenamento.....	15
Figura 2 - Antocianinas obtidas a partir do extrato do repolho roxo	19
Figura 3 - Comportamento do desvio do parâmetro C* das antocianinas extraídas com álcool 25%, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento.....	23
Figura 4 - Comportamento do desvio do parâmetro C* das antocianinas extraídas em água, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Média dos valores obtidos para os parâmetros de cor dos extratos obtidos a partir do repolho roxo, em diferentes tratamentos.....	17
Tabela 2- Quadro de análise do experimento fatorial ANOVA, teste de Tukey.....	19
Tabela 3- Médias do parâmetro C* das antocianinas extraídas com álcool 25%, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento.	21
Tabela 4- Médias do parâmetro C* das antocianinas extraídas com água, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento.....	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1 MATERIAIS	12
2.2 SECAGEM E MOAGEM.....	12
2.3 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS	12
2.4 ESTABILIDADE DA COR DAS ANTOCIANINAS.....	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
3.1 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS	16
3.2 ESTABILIDADE DA COR DAS ANTOCIANINAS.....	20
4 CONCLUSÃO.....	25
5 REFERENCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

Ao consumir um alimento, a cor é o primeiro atributo sensorial a ser observado, deste modo, para atender as expectativas dos consumidores, os quais frequentemente associam cor ao sabor e aroma, as indústrias alimentícias empregam o uso de corantes para conferir ou realçar a cor em determinados tipos de alimentos.

A adição de corantes em alimentos possui muitas finalidades, realçar a cor existente no próprio produto alimentício, apresentar uniformidade na cor, recompor a aparência original do alimento quando a cor é comprometida pelo processamento, além disso, alimentos que não possuem coloração, como o açúcar e o refrigerante, podem ser adicionados de corantes (HENRY, 1996).

As indústrias alimentícias, gradativamente, estão buscando novas formas de melhorar e padronizar a cor de alimentos processados, que constantemente são afetados durante a produção em consequência a exposição dos alimentos a mudanças de temperatura, pH, luz e longos períodos de armazenamento.

Com a proibição do emprego de numerosos corantes artificiais, observa-se uma nova tendência na substituição por corantes naturais, de tal modo, que o consumo e a importância destes, apresentaram um aumento significativo nos últimos anos (CUNHA, 2008; MORITZ, 2005). Além de conferir ao produto uma aparência natural, aumentando a receptividade pelos consumidores, os corantes naturais vêm sendo utilizados há anos sem provas de malefícios a saúde (GOMES, 2012).

Neste contexto, as antocianinas que são compostas pelo maior conjunto de pigmentos solúveis em água do reino vegetal segundo Bridle; Timberlake (1997), vem sendo estudadas por serem agentes de coloração natural em alimentos. São encarregadas pelos tons que variam de vermelho vivo, violeta à azul (BOBBIO; BOBBIO, 1995). As antocianinas se encontram amplamente distribuídas na natureza, presentes em flores, frutos, vegetais, caules e raízes de plantas (MALACRIDA; MOTA, 2006).

A importância e a eficácia do emprego de antocianinas como corante natural se deve ao fato de proporcionarem uma extraordinária cor vermelho brilhante em alimentos ácidos, como refrescos, compotas e doces, podendo ser utilizadas como substituto vegetariano para o carmim de cochonilha em produtos com baixo pH (DOWNHAM; COLLINS, 2000).

Porem as antocianinas apresentam características inconvenientes, como a deterioração exercida no decorrer da extração vegetal, no processo e na estocagem de alimentos em decorrência das variações de pH, temperatura, influência do oxigênio, enzimas e da interferência da luz em sua coloração (LOPES et al., 2007; GOMES, 2012).

Portanto é essencial estabelecer critérios de extração deste pigmento, de maneira que as antocianinas proporcionem o menor possível de alterações em suas propriedades, para posteriormente serem utilizadas (LOPES, 2002).

Das fontes naturais de corantes já pesquisadas, o repolho roxo detém elevada concentração de antocianinas. Segundo Idaka (1987); Nakatani et al., (1987); Ikeda et al., (1987), identificaram mais de 15 antocianinas existente neste vegetal. De acordo com Bridle; Timberlake (1997); Chigurupati et al., (2002) o fato de ocorrer uma extensiva acilação nos pigmentos do repolho roxo proporcionam qualidades superiores na estabilidade e na coloração. Além disso, apresenta vantagem comercial por ser um vegetal de fácil acesso e de baixo custo.

Diante disto o objetivo deste trabalho foi avaliar a extração de antocianinas a partir do repolho roxo (*Brassica oleracea*), em diferentes condições de pH, temperatura e solventes, além de avaliar sua estabilidade ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

Os repolhos roxos (*Brassica oleracea*) foram adquiridos em supermercados da região. Todos os vegetais foram selecionados por avaliação visual e de consistência, apresentando o mesmo grau de maturidade.

As amostras foram conduzidas ao Laboratório de Vegetais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa, PR.

Os solventes utilizados foram álcool etílico 96% e acetona com pH previamente ajustado a 4,0; 5,0 e 6,0.

2.2 SECAGEM E MOAGEM

Os vegetais foram submetidos à secagem em uma estufa com ventilação American Lab AL 100/630, a uma temperatura de 70°C por 1 hora. Conforme Malacrida; Motta (2006), processos utilizando baixo tempo em altas temperaturas têm sido recomendados para melhor retenção dos pigmentos em antocianinas.

Após a secagem as amostras foram trituradas em liquidificador, e o pó obtido foi acondicionado em vidro envolto com papel alumínio e refrigerado até o momento de ser utilizadas.

2.3 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

O método de extração de antocianinas foi adaptado a partir do trabalho de Renhe (2008). Após secagem e moagem, utilizou-se 10 gramas do pó obtido para cada extração e completos até 100mL de solvente (álcool 25%, álcool 96% e acetona), com pH previamente ajustado (4,0; 6,0), levados para aquecimento em chapas aquecedoras, sob agitação. Quando atingida as temperaturas ideais (25°C; e 75°C),

a amostra foi mantida sob aquecimento por trinta minutos. Após o tempo estabelecido o material foi filtrado em funil com papel filtro Qualy® 12,5 Ø, para reter as impurezas. Totalizando doze tratamentos.

As amostras obtidas representaram uma unidade experimental, e a combinação de um solvente com um nível de pH e um nível de temperatura caracterizando um tratamento de interesse. O ajuste do pH das soluções extratoras foi realizado com adição de HCl e NaOH em diferentes concentrações, utilizando o pHmetro Digital TEC-2 mp.

Foi realizado dentro do delineamento experimental um tratamento adicional com solvente água, com pH 5,0 a uma temperatura de extração a 50°C, pois as antocianinas são altamente solúveis em água.

O extrato obtido do repolho roxo foi comparado a um padrão, o corante sintético vermelho II-V Arcolor, por se tratar de um corante largamente utilizado pelas indústrias alimentícias, e também pelo fato dos extratos obtidos neste experimento, apresentarem-se em soluções ácidas onde sua coloração aproxima-se da cor vermelha. A amostra padrão foi preparada com 10 miligramas do pó completo com 20mL de água.

A análise de cor instrumental foi avaliada em triplicata, conduzida em aparelho espectrofotômetro Ultra Scan PRO, lente de 0,19 in e ângulo de 8°. Os parâmetros avaliados foram os valores das coordenadas luminosidade (L^*) que possui uma variação de zero (preto) a 100 (branco), as coordenadas verde/vermelho (a^*) e azul/amarelo (b^*), ambas com valores no intervalo de -60 a 60. Além destas coordenadas de cores, também foi conduzida a leitura dos valores de croma (c^*), que representa a saturação ou intensidade da cor, e a medida do ângulo de tinta (h^*) representando a tonalidade da cor.

Utilizou-se delineamento experimental fatorial diferenciado com 3 repetições, mais um tratamento adicional (solvente água) e um tratamento testemunha (padrão). Os resultados foram analisados estatisticamente pelo software ASSISTAT versão 7.7 beta, sendo realizada Anova e teste de Tukey, utilizando um nível de 5% de significância.

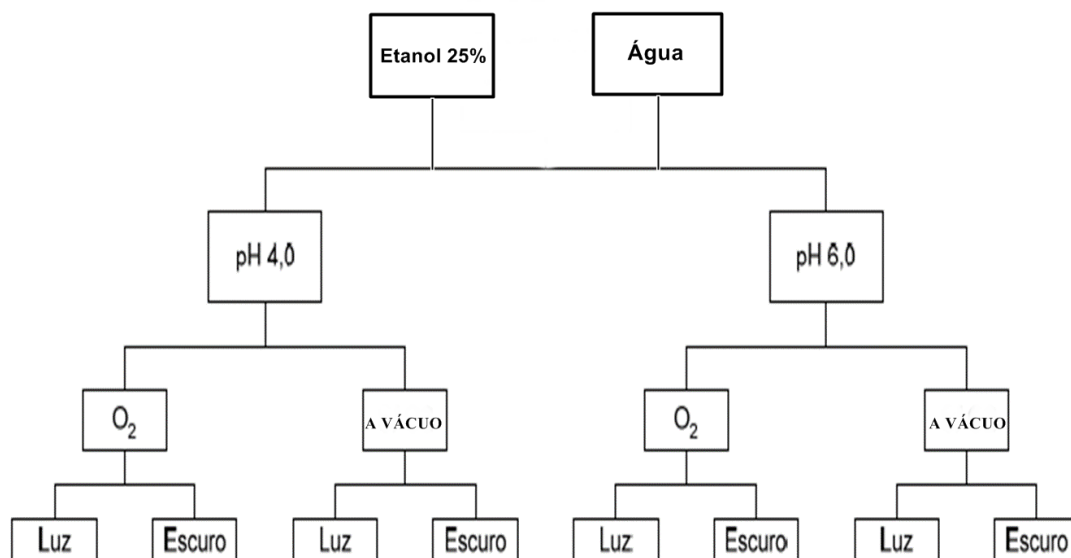
2.4 ESTABILIDADE DA COR DAS ANTOCIANINAS

Para a avaliação da estabilidade da cor das antocianinas, consistiu em selecionar dois solventes com maior poder extrator a partir do delineamento experimental realizando-se uma nova extração, em condições ótimas de pH e temperatura. Submetidas a diferentes condições de armazenamento, avaliando-se as mesmas sob o efeito da luz, oxigênio e pH.

A temperatura de extração foi a 50°C média entre as temperaturas de 25°C e 75°C. O pH foi ajustado para 4,0 e 6,0 por representarem faixas utilizadas na maior parte dos alimentos. Adicionando-se 30 mL de solução tampão ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) para cada 100mL de extrato do repolho roxo, acrescentando sorbato de potássio para prevenir o crescimento de fungos.

Após extração as amostras foram acondicionadas em embalagens transparentes, uma parte recebendo luz de lâmpadas fluorescentes 40 w, 2500 lux, que corresponde a luz do dia, a uma distância de 50cm das embalagens em temperatura ambiente, outra parte das amostras armazenadas em local escuro com a mesma temperatura. Para simular a presença e a ausência de oxigênio, parte das amostras foram seladas a vácuo seladora Audionvac VM 101H. Totalizando oito tratamentos distintos O experimento é ilustrado na figura 1.

Figura 1 - Fluxograma representativo da estabilidade do extrato do repolho roxo em diferentes condições de armazenamento.



Fonte: autoria própria.

A cor instrumental medida em aparelho espectrofotômetro Ultra Scan PRO, lente de 0,19 in e ângulo de 8°, em triplicata. As leituras colorimétricas das médias e dos desvios em relação ao padrão foram feitas a cada sete dias durante quatro semanas. Os padrões representaram as amostras no tempo zero (imediatamente após extração). O parâmetro analisado foi a saturação ou intensidade da cor (C*).

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo software ASSISTAT versão 7.7 beta, sendo realizada Anova e teste de Tukey utilizando um nível de 5% de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

As extrações foram realizadas conforme o delineamento experimental diferenciado com três repetições, mais um tratamento adicional (solvente água) e um tratamento testemunha (padrão). A Tabela 1 expressa os resultados experimentais, com as médias dos valores para análise de cor dos extratos antociânicos obtidos a partir das cascas do repolho roxo. Os resultados observados expõem a amplitude de cores do extrato estudado.

Tabela 1 - Média dos valores obtidos para os parâmetros de cor dos extratos obtidos a partir do repolho roxo, em diferentes tratamentos.

Tratamentos	Temperatura	pH	Solvente	L*	a*	b*	C*	h
1	25°C	4	Álcool 96%	26,09	0,18	-0,13	0,25	313,05
2			Acetona	26,09	0,43	-0,27	0,51	328,56
3			Álcool 25%	26,48	1,56	-0,67	1,70	337,00
4		6	Álcool 96%	26,13	-0,18	0,09	0,20	181,76
5			Acetona	26,85	-0,19	0,61	0,64	106,96
6			Álcool 25%	25,25	0,82	0,56	1,04	35,02
7	75°C	4	Álcool 96%	26,18	0,15	0,15	0,24	106,51
8			Acetona	26,13	0,09	0,19	0,22	129,85
9			Álcool 25%	25,23	0,76	0,34	0,83	23,22
10		6	Álcool 96%	25,34	-0,46	0,34	0,58	144,04
11			Acetona	26,45	-0,54	0,23	0,60	155,16
12			Álcool 25%	25,07	0,96	0,89	1,36	41,69
Adicional	50°C	5	Água	25,14	0,61	-1,44	1,58	293,65
Padrão		6	Corante sintético	25,08	1,27	1,24	1,82	45,03

Fonte: autoria própria.

Os extratos que apresentaram luminosidade (L*) mais próxima do padrão, foram o tratamento 12 e o tratamento adicional, indicando que os extratos solubilizados em água foram mais escuros. Segundo Bridle e Timberlake (1997), isto ocorre devido as antocianinas serem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal.

As coordenadas de a* apresentaram menores valores nos ensaios 10 e 11, estes foram realizados com álcool 96% e acetona respectivamente, se distanciando

da cor vermelha. Em virtude à elevada reatividade, as antocianinas degastam-se facilmente, originando o desenvolvimento de compostos incolores ou de pigmentação marrom e materiais insolúveis (MAZZA; BROUILLARD, 1987). Por serem polares e conter grupos hidroxilas, carboxilas, metoxilas e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos, as antocianinas solubilizam com muita facilidade em água, auxiliando na extração e isolamento das antocianinas (HARBORNE; GRAYER, 1988). Já no tratamento 3, apresentou o maior valor para coordenada de a^* , valor superior ao encontrado para o tratamento padrão. Isto se deve ao fato do elemento pH afetar diretamente a cor, em meio ácido, as antocianinas são vermelhas, porém ao aumentar o pH, há redução na intensidade da cor (MAZZA; BROUILLARD, 1987).

A maior saturação entre todas as amostras, indicada pela coordenada colorimétrica C^* , foi observada quando foi utilizado como veículo de solubilização água e álcool 25%, enquanto que a tonalidade dos ensaios 6, 9 e 12, representada pela coordenada colorimétrica h^* , mantiveram-se com os menores valores, indicando prevalência da cor vermelha. Este fato pode estar relacionado com o efeito da temperatura, Cacace; Mazza (2003) em seus estudos observaram que ao aumentar a temperatura de 6 para 30°C, houve um acréscimo no rendimento e redução significativa no tempo de extração de antocianinas de groselhas pretas, com o emprego de solventes Álcool e água sulfurada, entretanto, a aplicação de temperaturas de extração de 40 e 70°C ocasionou rendimentos inferiores em consequência à decomposição das antocianinas.

Em relação aos tratamentos 1, 2, 3 e o tratamento adicional, apresentaram para o parâmetro b^* uma tendência para o azul, visto que, o tratamento adicional foi realizado a um pH 5,0. Habitualmente o isolamento da maior parte das antocianinas comuns, em solução aquosa mostram-se com um padrão geral de alterações estruturais. O cátion *flavilium* vermelho é a espécie dominante em soluções muito ácidas. Com o aumento do pH, uma série de reações químicas pode ocorrer protonação, levando à base quinoidal azul; hidratação do cátion *flavilium*, originando uma pseudobase incolor; tautomerização, responsável pela abertura do anel, resultando na forma *cis*-chalcona amarelo-pálida, e finalmente, isomerização para a forma *trans*-chalcona amarelo-pálida (LOPES et al., 2007).

Foi verificada interação tripla através análise de variância entre os fatores temperatura, pH e solvente ($p < 0,01$), segundo a tabela 2.

Tabela 2 - Quadro de análise do experimento fatorial ANOVA, teste de Tukey.

Variáveis	SQ	QM	F	p	
Temperatura	0,0676	0,0676	2,1921	0,1497	ns
pH	0,1133	0,1133	3,6755	0,0653	ns
Solvente	5,6691	2,8345	91,9167	<0,0001	**
Int. Temperatura x pH	0,8464	0,8464	27,4466	<0,0001	**
Int. temperatura x solvente	0,3360	0,1680	5,4481	0,0100	*
Int. pH x Solvente	0,1485	0,0743	2,4078	0,1084	ns
Int. temperatura x pH x solvente	0,3905	0,1953	6,3317	0,0053	**
Fat x T. adc+ Padrão	5,3448	5,3448	173,3181	<0,0001	**
T adc x Padrão	0,0913	0,0913	2,9595	0,0963	ns

In= Interação Fat=fatorial T.adc= Tratamento adicional

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Fonte: autoria própria.

Os resultados indicaram que a variável solvente ($p=0,0001$), e as interações entre temperatura, pH e solvente ($p= 0,0053$) foram significativas com efeitos positivos. As três variáveis são responsáveis por afetarem linearmente os resultados dos pigmentos extraídos.

Conforme a metodologia de Matos (1997), extratos que contém antocianinas em meio lipofílico e hidrofílico ocasionam em uma extração deste elemento. E ao alterar o valor do pH do meio apresentará cores variadas. A figura 2 mostra a amplitude cores das antocianinas obtidas do extrato do repolho roxo.

Figura 2 - Antocianinas obtidas a partir do extrato do repolho roxo



Fonte: autoria própria.

As antocianinas encontram-se nas células próximas à face exterior das plantas e no processo de extração são retiradas facilmente por solventes orgânicos. É comum o emprego de soluções acidificadas como álcool, acetona, água e misturas de acetona/álcool/água têm sido usadas para a extrair antocianinas (JU; HOWARD, 2003).

3.2 ESTABILIDADE DA COR DAS ANTOCIANINAS

Conforme o delineamento experimental os solventes que se mostraram visualmente com maior poder extrator de pigmentos foram o álcool 25% e a água que em pH ácido apresentaram maior intensidade da cor vermelha. A acetona e o álcool 96% acabam tornando o processo de extração economicamente alta, e em concentrações altas degradam a antocianina resultando em compostos incolores, além de serem tóxicos a saúde.

Para auxiliar a avaliação desse experimento foi realizada análise de variância e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Assistat versão 7.7 beta. As variáveis analisadas foram as médias e o desvio da cor em relação ao padrão do parâmetro de cromaticidade (C^*).

Na Tabela 3 estão representados os valores das médias para a coordenada C^* em diferentes condições de armazenamento ao longo do tempo extraídas em álcool 25%. Ao analisar as médias dos valores da intensidade das cores após sete dias, em relação aos tratamentos pH 6,0/oxigênio/luz e pH 6,0/oxigênio/escuro, houve diferença significativa, onde a amostra acondicionada em local escuro manteve a intensidade da cor. Stringheta (1991) em seus estudos, sugeriu que a implicação destrutiva da luz presentes nas antocianinas do capim gordura são abundantemente intensas, ligadas também ao pH. Dirby et. al., (2001); Carlsen; Stapelfeldt (1997) definiram o número aparente de foto-branqueamento de antocianinas provenientes do repolho roxo e do fruto do sabugueiro, ressaltando a baixa sensibilidade à fotodegradação com valores de pH 3,0 a 3,8, respectivamente.

Através do teste de Tukey, pode-se observar que o tratamento pH6/oxigênio/escuro, teve a pigmentação degradada somente na terceira semana,

esse resultado denota a importância do pH 6,0 e do escuro para alcançar um corante estável e com maior saturação. Várias literaturas atestaram que as antocianinas expressam alta estabilidade em pH ácido, onde também ocorre maior rendimento de extração (LOPES, 2002; KUSKOSKI, 2000; STRINGHETA, 1991; CASCON et al., 1994).

Tabela 3 - Médias do parâmetro C* das antocianinas extraídas com álcool 25%, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento.

Tratamentos	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 4
pH4,0/ oxigênio / luz	1,84 a	1,15 b	1,75 a	1,02 b	1,13 a
pH4,0/ oxigênio / escuro	1,84 a	1,34 b	1,76 a	1,70 a	1,04 a
pH4,0/ vácuo/luz	1,84 a	1,81 a	1,18 b	1,66 a	1,16 a
pH4,0/ vácuo/escuro	1,84 a	1,74 a	1,04 b	1,51 ab	1,08 a
pH6,0/ oxigênio / luz	1,90 a	1,24 b	1,77 a	1,64 a	1,12 a
pH6,0/ oxigênio / escuro	1,90 a	1,90 a	1,80 a	1,37 ab	0,83 a
pH6,0/ vácuo/luz	1,90 a	1,98 a	1,01 b	1,56 ab	1,43 a
pH6,0/ vácuo/escuro	1,90 a	1,81 a	1,12 b	1,60 ab	0,99 a

*As médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: autoria própria.

Os dados da Tabela 4 são referentes as médias dos tratamentos ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento, com os pigmentos do repolho roxo extraídos somente em água.

Nos tratamentos pH6/oxigênio/escuro e pH6/vácuo/luz no Tempo1, ou seja, após sete dias de armazenamento houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos. A existência de oxigênio no meio, assim como os outros fatores, acaba degradando as antocianinas, inclusive na ausência de luz, e todas as variações de pH. Ocorrendo através da oxidação direta ou indireta dos componentes do meio reagindo com as antocianinas. A precipitação e o aparecimento da turbidez em sucos de frutas eventualmente resultam da oxidação direta da base carbinol de antocianinas (JACKMAN; SMITH, 1992). Daravingas; Cain (1968), em suas pesquisas sobre a deterioração do pigmento do suco de framboesa, verificaram que o segundo motivo em ordem de relevância, posteriormente ao pH, na degradação

do pigmento, era a existência do oxigênio molecular. Em todos os métodos empregados, ao substituir o oxigênio por nitrogênio, a antocianina se manteve estável.

Tabela 4 - Médias do parâmetro C* das antocianinas extraídas com água, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento.

Tratamentos	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 4
pH4,0/ oxigênio / luz	1,74 a	1,41 bc	1,34 b	1,23 bc	1,15 cd
pH4,0/ oxigênio / escuro	1,74 a	0,82 d	1,42 ab	1,71 ab	1,18 cd
pH4,0/ vácuo/luz	1,74 a	1,60 abc	1,72 a	1,48 bc	1,85 ab
pH4,0/ vácuo/escuro	1,74 a	1,75 ab	0,89 c	2,04 a	1,92 a
pH6,0/ oxigênio / luz	1,80 a	1,40 c	1,29 b	1,28 bc	1,37 bc
pH6,0/ oxigênio / escuro	1,80 a	1,26 c	1,21 bc	1,47 bc	0,83 d
pH6,0/ vácuo/luz	1,80 a	1,88 a	1,18 bc	1,10 c	2,03 a
pH6,0/ vácuo/escuro	1,80 a	1,42 bc	1,30 b	0,98 c	1,37 bc

*As médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

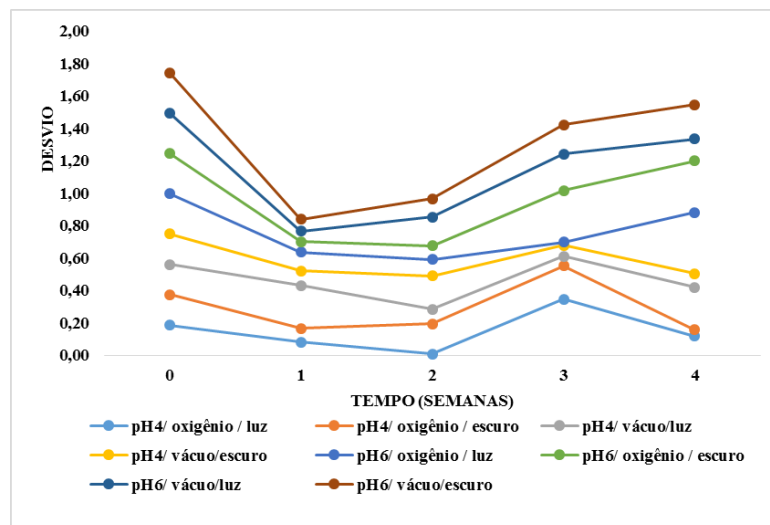
Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: autoria própria.

De modo geral pode-se observar a inconstância dos valores de saturação nas amostras extraídas em solução aquosa, ou seja, a intensidade da coloração independente do tratamento, diminuiu e com o passar do tempo aumentou. Este fato pode estar relacionado com o aparecimento de fungos nas amostras, mesmo com a adição do sorbato de potássio.

As figuras 3 e 4 apresentam o comportamento do desvio em relação ao padrão extraídos com solvente álcool 25% e água, respectivamente, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento. O menor desvio significa maior proximidade com o padrão (tempo 0).

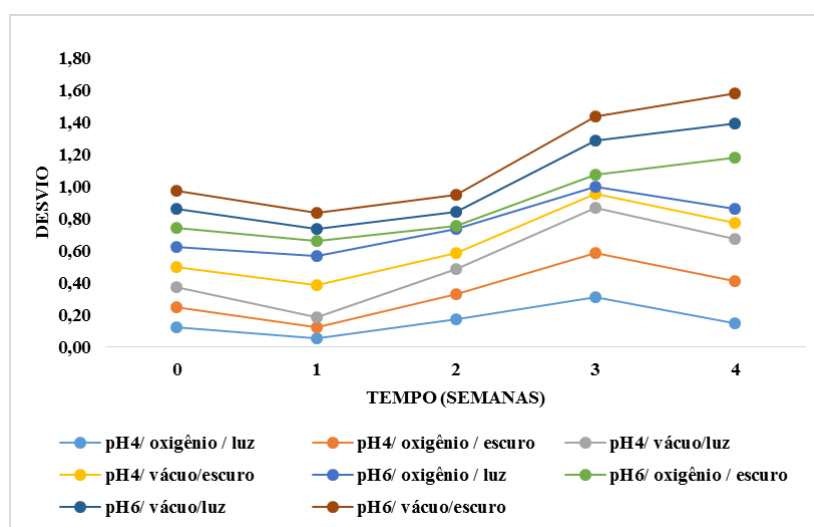
Figura 3 - Comportamento do desvio do parâmetro C* das antocianinas extraídas com álcool 25%, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento



Fonte: autoria própria.

Os resultados observados mostram que de forma geral para desvio em relação ao extrato obtido por solvente álcool 25%, a intensidade da cor manteve-se constante até a segunda semana (figura 3). O mesmo não ocorreu com o pigmento extraído somente em água, ouve um aumento do desvio em relação ao padrão após a primeira semana, ou seja, a intensidade da cor diminuiu (figura 4).

Figura 4 - Comportamento do desvio do parâmetro C* das antocianinas extraídas em água, ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento



Fonte: autoria própria.

As antocianinas apresentam características inconvenientes, como a deterioração exercida no decorrer da extração vegetal, no processo e na estocagem de alimentos. Este pigmento expressa maior estabilidade perante natureza acida, entretanto pode ocorrer degradação de diversas formas, inicialmente danos na cor, acompanhadas de tonalidades amareladas e desenvolvimento de substâncias insolúveis, podendo explicar em alguns casos a queda do desvio em consequência aumentando a intensidade da cor.

4 CONCLUSÃO

O repolho roxo apresentou-se como uma fonte natural de corante vermelho em meio ácido, sendo possível obter este pigmento em água e álcool 25%, que são solventes de baixo custo, tornando o processo economicamente viável. Houve interação tripla entre as variáveis temperatura, pH e solvente.

Para os extratos obtidos com álcool 25% o tratamento nas condições de pH6,0/oxigênio/escuro obteve melhor desempenho, e maior saturação da cor, apresentando queda da intensidade do pigmento apenas na terceira semana, ou seja, em 21 dias manteve-se estável.

O corante natural extraído das antocianinas pode substituir o corante sintético, mediante outros métodos de conservação.

5 REFERENCIAS

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Química do Processamento de alimentos. São Paulo: Livraria Varela Ltda. 1995. 151 p.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours selected aspects. Food Chemistry, v.58, n.1-2, p.103-109, 1997.

CACACE, J.E.; MAZZA, G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. J. Food Eng., vol 59, p 379-389, 2003.

CARLSEN, C.; STAPELFELDT, H. Light sensitivity of elderberry extract. Quantum yields for photodegradation in aqueous solution. Food Chemistry, v. 60, p. 383-387, 1997.

CASCON, S.C.; CARVALHO, M.P.M.; MOURA, L.L. Corantes de batata doce roxa para uso em alimentos. EMBRAPA, 1994. 25 p. (Boletim de pesquisa, 09).

CUNHA, F. G. Estudo da Extração Mecânica de Bixina das Sementes de Urucum em Leite de Jorro. 2008. 92p. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008. Orientador: Marcos Antonio de Souza Barrozo.

CHIGURUPATI, N.; SAIKI, L.; GAYSER JR., C. Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use. International Journal of Pharmaceutics, v. 241, n.2, p.293-299, 2002.

DARAVINGAS, G.; CAIN, R.F. Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model system, Journal of Food Science, v. 33, p 138-142, 1968.

DIRBY, M.; WESTERGAARD, N.; STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. Food Chemistry, v. 72, p.431-437, 2001.

DOWNHAN, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. International Journal of Food Science and Technology, v.35, p.5-22, 2000.

FRANCIS, F.J., Food Colorants: anthocyanins, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., v.28, n.4, p.273-314, 1989.

GOMES, L. M. M. Inclusão de Carotenoides de Pimentão Vermelho em Ciclodextrinas e Avaliação da Sua Estabilidade, Visando Aplicação Em Alimentos. 2012. 108p. Dissertação (Mestre em Ciências Aplicadas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012. Orientadora: Kátia Gomes de Lima Araújo.

HARBORNE, J.B.; GRAYER, R.J., The anthocyanins. In: The flavonoids: advances in research since 1980. Chapman & Hall, London, 1988, p. 1-20.

HENRY, B. S. Natural food colours. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J.D. Natural Food Colorants. 2.ed. Great Britain: Chapman & Hall, 1996. p. 40-79.

IACOBUCCI G.A.; SWEENEY J.G., The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins and related flavylum salts. Tetrahedron, v.39, p. 3005-3038, 1983.

IDAKA, E., Aciled anthocyanins from red cabbage, Patente japonesa 62,209,173, 1987.

IKEDA, K.; KIKUZAKI, H.; NAKAMURA, M.; NAKATANI, N., Structure of two aciled anthocyanins from red cabbage (*Brassica oleracea*), Chemistry Express, v.2, n.9, p.563-566, 1987.

JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y.; TUNG, M.A.; SPEERS, R.A., Anthocyanins as food colorants. - A Review. J. Food Biochem. v.11, p.201-247, 1987.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G.A.F. and HOUGHTON, J.D. Natural Food Colorants. London: Blackie Academic. p.183-241, 1992.

JU, Z. Y.; HOWARD, L. R. Effects of Solvent and Temperature on Pressurized Liquid Extraction of Anthocyanins and Total Phenolics from Dried Red Grape Skin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 18, p. 5207-5213, 2003.

KUSKOSKY, E.M. Extração, identificação e estabilidade dos pigmentos dos frutos de báguacu (*Eugenia umberliliflora*, Berg). Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 113 f, 2000.

LOPES, T.J. Adsorção de antocianinas do repolho roxo em argilas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 121 f, 2002.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: Uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. R. Bras. Agrociência, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

MALLACRIDA, S.R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. CEPPA, 24: 59 – 82, 2006.

MATOS, J. F. A. Introdução à Fotoquímica Experimental. 2 ed. Fortaleza: UFC Edições. 1997.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. Food Chemistry, Oxford, v.25, p.207-225, 1987.

MORITZ, D. E. Produção do Pigmento Monascus Por *Monascus ruber* CCT 3802 em Cultivo Submerso. 2005. 150p. Tese (Doutor em Engenharia Química), 63 Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. Orientador: Jorge Luiz Ninow.

NAKATANI, N.; IKEDA, K.; NAKAMURA, M.; KIKUZAKI, H., Structure of diacyled anthocianins from red cabbage (*Brassica oleracea*). *Chemistry Express*, v.2, n.9, p. 555-558, 1987.

RENHE, Isis Rodrigues Toledo, M.Sc., Extração e Estabilidade do Corante Azul de Jenipapo (*Genipa americana L.*). 2008. 62p. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, MG, 2008. Orientador: Paulo César Stringheta. Co-orientadores: Nilda de Fátima Soares e Tânia Toledo de Oliveira.

STRINGHETA, P.C.; Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv.), Campinas, 1991,138 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UNICAMP.