Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Escola de Química e Alimentos

EXTRAÇÃO E SECAGEM DO BIOCORANTE DO FRUTO DA PALMEIRA JUÇARA *(Euterpe edulis Martius)*.

Sara Silvane de Fraga Silva

Orientadora: Profª. Drª. Neusa Fernandes de Moura
Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto de Menezes Peixoto

2016

EXTRAÇÃO E SECAGEM DO BIOCORANTE DO FRUTO DA PALMEIRA JUÇARA *(Euterpe edulis Martius)*.

Sara Silvane de Fraga Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande, como parte dos requisitos necessário à Graduação em Engenharia Agroindustrial – Indústrias Alimentícias.

Orientadora: Profª. Drª. Neusa Fernandes de Moura

Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto de Menezes Peixoto

Santo Antônio da Patrulha

2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao mundo maior por ter me acompanhado nesta estrada sinuosa colocando-me nos lugares certos, horas certas e pessoas certas sempre que a necessidade se fez presente.

Agradeço aos meu orientadores Neusa Fernandes de Moura e Carlos Roberto de Menezes Peixoto, que ao longo destes anos de graduação me carregaram em seus ombros de gigantes possibilitando-me a visão mais ampla do mundo, mais distante dos problemas e mais próxima dos sonhos.

Agradeço a Professora Juliana Espíndola pela suas preciosas colaborações, sugestões e orientações para que este trabalho obtivesse resultados expressivos.

Agradeço aos professores Fernando Kokubun e Antônio Valente que através de suas valiosas contribuições me fizeram chegar tão longe em minha pesquisas. Fizeram com que eu tornasse realidade o sonho de montar um laboratório de pesquisas e dele produzir frutos valiosos na contribuição do aprendizado e da divulgação do mesmo, obra mais preciosa produzida por nossos devaneios.

A técnica Marcia Silveira que além de amiga sempre me auxiliou nos trabalhos de laboratório tornando os dias mais ágeis e leves. A Andréa Edom Morales que sem dúvida nenhuma dedica seu tempo exercendo de forma excepcional suas atividades, com dedicação, carinho e alegria. Ao Thomaz e a Daiane Bastos por todos os socorros prontamente atendidos.

Como todos fizeram parte desse barco louco da graduação, agradeço aos professores, técnicos administradores e funcionários da Universidade Federal do Rio Grande - FURG que de alguma forma contribuíram para a navegação neste oceano.

Agradeço aqueles que mesmo distante me receberam de braços abertos em seus laboratórios e suas universidades para realizar importantes pesquisas e descobertas sobre nossas frutas: Jane Moreira de Jesus, Lilia Calheiros de Oliveira, Adriana Flach, Luiz Antonio Costa.

Um agradecimento especial e emocionado aqueles que me carregaram no colo durante todos estes anos de esforço, dedicação e estudos que sem eles eu não teria concluído essa etapa da minha vida, mesmo naqueles dias que eu queria desistir por ser pesado demais o fardo eles não permitiram que eu o fizesse, doando-se em solidariedade, ânimo, ajuda física e psicológica: Lisiane Teixeira Furlan, Mariana Silva Gomes, Mauricio de Oliveira e Jairo Muniz.

Não poderia esquecer aqueles colegas que fizeram parte dessa pesquisa e também colheram estes frutos comigo, Joelmir Grassi, Maria Francisca Croda, Raquel Lopes, Danize Justin, Camila Rocha, Daniela Koch, Mariana Bellaver, Débora Carvalho, Juliano Justin e Mariana Gomes.

Agradeço aos colegas de curso e agora amigos da vida Fabiane Hood, Vanessa Muniz, Cristina Rolim, Bruna Bastos, Ana Maria Santos, Lucas Vidal, Bruna Vargas, Mauricio Fantinel, Deizi Peron e todos aqueles colegas que junto comigo estudaram, realizaram trabalhos, sonharam, brigaram e lutaram com dedicação e esforço.

Agradeço aos empresários Sandra e Neri Böröndi, proprietários da Açaí dos Sinos, que prontamente me atenderam nas necessidade de matéria-prima para a realização deste trabalho.

Agradeço aos meus colegas e companheiros de trabalho no escritório SAP Assessoria Contábil, especialmente ao Maico e a Bibiana que foram meus suportes, e aos demais colegas Alair, Zaida, Thayna, e Angelita. A minha colega, amiga e braço direito Vanessa Rodriguez que sempre esteve do meu lado todos estes anos.

RESUMO

Considera-se corante para fins alimenticios a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento e bebida. Os corantes sintéticos utilizados no processamento de alimentos e bebidas apresentam uma série de vantagens competitivas como menores custos, maior estabilidade e maior disponibilidade em relação aos naturais. Contudo há inúmeros estudos relacionando graves prejuízos para a saúde, principalmente de crianças que a longo prazo acumulam efeitos nocivos devido ao consumo cumulativo de diversos alimentos contendo tais substâncias. Esse forte apelo, contribui para pesquisa de substituição dos corantes sintéticos por substâncias naturais com as mesmas capacidades coloríficas e de estabilidade. Entre esses corantes naturais encontram-se as antocianinas que além de seu forte poder corante, agregam propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas, importantes à saúde humana. Uma fonte de antocianinas para corantes naturais é a palmeira Juçara, planta naturalmente presente no bioma da mata atlântica. Para obtenção do biocorante foram utilizados os frutos e a polpa processada da palmeira juçara obtidos da industria Açai dos Sinos. Foram avaliados os parâmetros de matéria-prima (fruto e polpa), extração (alcoolica e aquosa) e secagem (liofilização e estufa) no biocorante. Para avaliar os parâmetros selecionados, foram utilizados dados de rendimento do biocorante, umidade residual, análise colorimétrica, solubilidade, degradação em diferentes faixas de pHs, quantificação de antocianinas, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. A qualidade da matéria-prima foi o parâmetro que mais influenciou na qualidade do biocorante sendo responsável diretamente pelos índices de rendimento, cor, taxa de degradação, antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os métodos utilizados para extração não teve influência direta sobre as propriedades do biocorante. Quanto ao processo de secagem, a liofilização influenciou diretamente no índice de solubilidade do biocorante.

PALAVRAS CHAVE: corantes naturais, antocianinas, antioxidantes, Juçara, estabilidade.

ABSTRACT

Dye is the substance or mix of substances that have the capacity to confer or enhance food and drink coloring. Synthetic dyes used in food and beverages processing have great competitive advantages such as lower cost, higher stability and availability than the natural ones. However, there are studies that indicate serious health effects, especially in children, due the long term and accumulative effect of many foods containing such substances. Because of this health issue, food industry has searched for a replacement for synthetic coloring using natural dyes with have the same heat capacity and stability. Among these natural dyes is the anthocyanins. In addition to its strong coloring power, anthocyanins add antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic, and other important benefits to human health. A promising source of anthocyanins for natural dyes is the juçara palm tree, naturally from the Atlantic Forest biome. In order to obtain natural dye from juçara palm tree, fruits and pulp were purchased from Açaí dos Sinos industry. In this study, the parameters evaluated were raw material quality (fruit and pulp), extraction (alcoholic and aqueous) and drying (freeze-drying and greenhouse) were examinated. To evaluate the selected parameters, the dye yield, residual moisture, colorimetric analysis, and solubility, degradation in different pH ranges, anthocyanin quantification, total phenolic compounds and antioxidant activity were used. The quality of the raw material was the parameter that most influenced the quality of the natural dye being directly responsible for the indices of yield, color, rate of degradation, anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant activity. The methods used for extraction had no direct influence on the properties of the natural dye. As for the drying process, the lyophilization directly influenced the solubility index of the dye

KEYWORDS: natural dyes, anthocyanins, antioxidants, Juçara, stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classes e subclasses dos compostos fenólicos.....21
Figura 2 - Reações de ação para os antioxidantes primários.....22
Figura 3 - Estrutura básica dos flavonoides. 23
Figura 4 – Núcleo básico Principais classes de compostos flavonoides. 23
Figura 5 – Estrutura química básica das antocianinas. 24
Figura 6 – Estrutura química das antocianinas, posições de acilação e glicosídeos mais comuns presentes na natureza. 25
Figura 7 – Escala de cores para diferentes pHs (1 à 14). 26
Figura 8 – Distribuição da palmeira juçara no Brasil. 28
Figura 9 – Cacho de juçara. Figura 10 – Palmeira juçara. 29
Figura 11 – Gráfico do espaço Mansell de cores 30
Figura 12 : processo de obtenção e secagem do corante.....32
Figura 13 – Localização aproximada das amostras de fruta e polpa em função de L*b*C*H° 40
Figura 14 – Localização aproximada das amostras do biocorante em função de L*b*C*H° 47
Figura 15 – Amostras do biocorante em pó.....48
Figura 16 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre as antocianinas.....51
Figura 17 – Gráfico dos valores preditos e observados (Antocianinas).....52
Figura 18 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre os compostos fenólicos.....54
Figura 19 – Gráfico dos valores preditos e observados (Fenólicos).....55
Figura 20 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre a AA dos biocorantes. 57
Figura 21 – Gráfico dos valores preditos e observados (Atividade Antioxidante).....57
Figura 22 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre a Solubilidade dos biocorantes 60
Figura 23 – Gráfico dos valores preditos e observados (solubilidade). 61
Figura 24 – Absorbância do biocorante PEAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH.....62
Figura 25 – Absorbância do biocorante PLAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH 63
Figura 26 – Absorbância do biocorante PEEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH.....64
Figura 27 – Absorbância do biocorante PLEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH 64

Figura 28 – Absorbância do biocorante FEAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH 65
Figura 29 – Absorbância do biocorante FLAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH 66
Figura 30 – Absorbância do biocorante FEEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH 67
Figura 31 – Absorbância do biocorante FLEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais corantes naturais e suas matérias-primas. 19
Tabela 2 – Planejamento fatorial aplicado à produção do biocorante 36
Tabela 3 – Matriz do planejamento fatoria 2^3, em sua forma codificada e real. 36
Tabela 4 – Determinação de umidade na matéria-prima.....37
Tabela 5 – Colorimetria da matéria-prima (MP) 39
Tabela 6 – Análise de compostos bioativos da matéria-prima (MP).....41
Tabela 7 – Rendimento dos biocorantes extraídos em solução aquosa 42
Tabela 8 – Rendimento dos biocorantes extraídos em solução etanol/acetona.....43
Tabela 9 – Umidade do biocorante em pó após secagem. 45
Tabela 10 – Colorimetria dos biocorantes com extração aquosa.....46
Tabela 11 – Colorimetria dos biocorantes com extração etanol/acetona. 47
Tabela 12 – Análise de antocianinas nos biocorantes 49
Tabela 13 - Matriz do planejamento Fatorial 2^3 com sua forma codificada para as antocianinas.....50
Tabela 14 – Valores dos efeitos dos fatores sobre as antocianinas dos biocorantes. 50
Tabela 15 – Análise de fenólicos totais nos biocorantes.....52
Tabela 16 - Valores dos efeitos dos fatores sobre os compostos fenólicos dos biocorantes. 53
Tabela 17 – Análise de Atividade Antioxidante (AA) nos biocorantes.....55
Tabela 18 - Valores dos efeitos dos fatores sobre a AA dos biocorantes. 56
Tabela 19 – Solubilidade dos biocorantes com extração aquosa.....58
Tabela 20 - Valores dos efeitos dos fatores sobre a solubilidade dos biocorantes ...59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12
2 OBJETIVOS 13
2.1 Objetivo geral 13
2.2 Objetivos específicos 13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 14
3.1 As cores na alimentação 14
3.2 Corantes alimentícios 14
3.3 Corantes sintéticos 16
3.4 Corantes naturais 18
3.5 Compostos bioativos 20
3.6 Compostos fenólicos 20
3.7 Flavonoides 22
3.8 Antocianinas 24
3.9 Palmeira Juçara (Euterpe edulis Martius) 27
3.10 Análise colorimétrica 30
4 METODOLOGIA 31
4.1 Matéria-Prima 31
4.2 Extração do biocorante 31
4.3 Secagem do biocorante 32
4.4 Determinação de Umidade 33
4.5 Análise de Colorimetria 33
4.6 Determinação dos compostos bioativos 33
4.6.1 Determinação das antocianinas totais 34
4.6.2 Determinação de compostos fenólicos totais 34
4.6.3 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical DPPH 34
4.7 Solubilidade do biocorante 35
4.8 Estabilidade do biocorante 35
4.9 Planejamento experimental 36
4.10 Análise Estatística 36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 37
5.1 Determinação da Qualidade da matéria-prima 37
5.1.1 Determinação de umidade na matéria-prima 37

5.1.2 Análise colorimétrica da matéria-prima.....39
5.1.3 Análise de compostos bioativos na matéria-prima.....41
5.2 Avaliação dos biocorantes.....42
5.2.1 Rendimento dos biocorantes 42
5.2.2 Determinação de umidade no biocorante em pó 45
5.2.3 Análise de colorimetria no biocorante em pó 46
5.2.4 Análise de compostos bioativos no biocorante 48
5.2.4.1 Análise de antocianinas totais 49
5.2.4.2 Análise de fenólicos totais 52
5.2.4.3 Análise de Atividade Antioxidante (AA) 55
5.2.5 Solubilidade do biocorante.....58
5.2.6 Estabilidade do biocorante.....61
6 CONCLUSÃO 69
REFERÊNCIAS.....71

1 INTRODUÇÃO

No setor industrial processamento de alimentos, o uso de aditivos capazes de proporcionar, restituir ou melhorar as cores dos alimentos é quase obrigatório em função do apelo visual, sendo este o primeiro sentido sensorial utilizado para possibilitar a aquisição e a avaliação da qualidade do produto. Logo, a aparência do alimento pode ter um efeito estimulante ou inibidor do apetite. Além de ser necessária para sobrevivência, a alimentação também pode ser fonte de prazer e satisfação. Por essa razão, o setor alimentício preocupa-se com a aplicação de cores e obtenção de alimentos que agradem aos olhos do consumidor (INSUMOS, 2009).

O público infantil é o principal alvo dos alimentos coloridos, principalmente as guloseimas. As empresas lançam mão de diversos artifícios para conquistar o público infantil, desde altos investimentos em *marketing* e brindes, até o uso de cores vibrantes para tornar as guloseimas as mais atrativas possíveis, o que justifica a grande utilização de corantes artificiais. (PRADO; GODOY, 2007).

Na literatura são encontrados inúmeros relatos que tais aditivos podem acarretar a possibilidade de desenvolver problemas alérgicos e desencadear doenças prejudiciais a saúde do consumidor, principalmente o consumidor infantil que está mais suscetível, tanto ao consumo de alimentos coloridos quanto ao desenvolvimento de doenças correlatas. Uma infância *colorida e feliz* como nos contos infantis, nem sempre condiz com a realidade do que a indústria oferece (PINHEIRO; ABRANTES, 2015).

Tendências do mercado consumidor, aliado aos conhecimentos científicos sobre a utilização de produtos naturais com propriedades funcionais e as restrições impostas pelos órgãos de controle internacionais ao uso de corantes artificiais, possibilitou um crescimento quanto ao interesse e a importância pelos corantes naturais, principalmente de origem vegetal (SOUZA, 2015).

As antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos do reino vegetal e fazem parte do subgrupo dos flavonoides. São responsáveis pela pigmentação principalmente de flores e frutos. Estes pigmentos podem oferecer cores atrativas e brilhantes, em função de sua alta solubilidade em água são prósperos como corantes naturais na formulação de alimentos industrilizados, ou como substituintes dos corantes sintéticos na indústria de alimentos. Antocianinas se fazem presentes em

frutas como morango, açaí, juçara, uva, amora, framboesa, jabuticaba, entre outras (FIGUEIREDO et al., 2008; LOPES et al., 2007; PIOVEZAN, 2014).

O Brasil se destaca entre os maiores produtores mundiais de frutas comestíveis, muitas dessas frutas são ricas fontes de compostos fitonutrientes, sendo que algumas destacam-se pela forte coloração roxa, o que caracteriza a presença de antocianinas. Um número alarmante dessas plantas estão entrando em risco de extinção devido a devastação dos recursos naturais. Associado a este lamentável fato, os conhecimentos populares sobre as formas de utilização dessas plantas e suas atividades complementares na saúde das populações locais, correm sérios riscos de desaparecerem (ZERAIK; BOLZANI, 2014).

Uma forma de reverter essa situação, é incentivar e intensificar a exploração racional e sustentável das áreas florestais remanescentes como o bioma da mata atlântica onde é produzido a palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius). Incentivar os agricultores a replantarem e manter o manejo sustentável da palmeira juçara para a utilização de seus frutos na produção de corantes naturais pode ser economicamente viável, social e ambientalmente correta (ANAMA, 2012; FIGUEIREDO et al., 2008; ZERAIK; BOLZANI, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os parâmetros de extração e secagem nas propriedades do biocorante do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius).

2.2 Objetivos específicos

- Determinar os parâmetros de extração e secagem do extrato do biocorante.
- Determinar o rendimento do extrato seco do biocorante.
- Avaliar a estabilidade dos compostos bioativos no extrato do biocorante.
- Avaliar a atividade antioxidante no extrato do biocorante.
- Determinar a solubilidade e estabilidade de cor do extrato do biocorante.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 As cores na alimentação

Colorir os alimentos para torná-los mais atrativos é um recurso utilizado desde os primórdios dos tempos. A cor é uma propriedade que está diretamente relacionada à aceitação de um alimento, sendo um componente essencial da qualidade, que mesmo considerado subjetivo, induz aos apelos de aroma, sabor e textura (FABRI; TERAMOTO, 2015; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Quando se trata de cores, os seres humanos são observadores que ultrapassam qualquer instrumento de análise de imagens. O julgamento é realizado em contexto, por um processo físico-psicológico sem precedentes chamado de percepção. As informações com imagens coloridas são passadas para o cérebro e passam por uma análise e, em seguida são interpretadas de acordo com o seu impacto emocional (BUENO, 2010).

Os alimentos têm cor em virtude de sua capacidade de reflexão ou emissão de diferentes quantidades de energia em comprimentos de onda capazes de estimular a retina dos olhos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Sendo a visão um dos cinco sentidos básicos, é o primeiro a ser utilizado na escolha dos alimentos.

Muitos compostos químicos responsáveis pelas cores chamativas de frutas e vegetais apresentam atividade antioxidante, anticarcinogênica, anti-inflamatório e ainda auxiliam na prevenção da obesidade (PIOVEZAN, 2014). Portanto, é evidente que a cor dos alimentos exerce vários efeitos sobre os consumidores de forma que este dado pode ser determinante para sua decisão de compra.

3.2 Corantes alimentícios

A Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), do Ministério da Saúde, através da Resolução nº. 44 de 1977, define corante alimentício como a “substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento (e bebida)”. Os corantes permitidos nesta Resolução para emprego na produção de alimentos (e bebidas) são classificados como:

- “Corante orgânico natural – aquele obtido a partir de vegetal, ou eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido isolado com o emprego de processo tecnológico adequado.
- Corante orgânico sintético - aquele obtido por síntese orgânica mediante o emprego de processo tecnológico adequado.
- Corante artificial - é o corante orgânico sintético não encontrado em produtos naturais.
- Corante orgânico sintético idêntico ao natural - é o corante orgânico sintético cuja estrutura química é semelhante à do princípio ativo isolado de corante orgânico natural.
- Corante inorgânico - aquele obtido a partir de substâncias minerais e submetido a processos de elaboração e purificação adequados a seu emprego em alimento.
- Caramelo - o corante natural obtido pelo aquecimento de açúcares à temperatura superior ao ponto de fusão.
- Caramelo (processo amônia) - é o corante orgânico sintético idêntico ao natural obtido pelo processo amônia, desde que o teor de 4-metil, imidazol não exceda no mesmo a 200mg/kg.”

No passado, os corantes naturais eram retirados de plantas, condimentos, alguns animais e até de minerais, como as argilas coloridas e o carvão. O uso de minerais como corantes remonta a antiguidade, pois alguns sais são bem coloridos como o azul celeste e verde dos sais de cobre, o azul royal dos sais de cobalto, além de tons que variam dos castanhos ao vermelho dos sais de ferro e estrôncio (BARROS; BARROS, 2010).

Em função das dificuldades de se trabalhar com produtos de origem natural que além de proporcionar gosto desagradável, poderiam ser tóxicos, descoloriam facilmente, não havia tecnologia para extrair e armazenar em grande escala, então buscou-se outros tipos de corantes. Era necessário um corante que fosse de baixo custo, estável e com cores intensas. Por volta do ano de 1856, o químico William Henry Perkin, descobriu o primeiro corante sintético, que denominou malveína. A substância de cor roxa (púrpura), que lembrava a cor da flor de malva, surgiu a partir de uma reação com a anilina (BARROS; BARROS, 2010).

3.3 Corantes sintéticos

O uso de aditivos, como os corantes artificiais, é um dos mais polêmicos progressos da indústria de produtos alimentícios, uma vez que seu uso em vários alimentos se explica simplesmente por questões de hábitos e culturas alimentares. Em geral a necessidade da utilização dos corantes está na aparência do produto para sua aceitabilidade, sendo esta a maior justificativa para o seu emprego (PRADO; GODOY, 2003).

Aditivo Alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento, conforme determina a Portaria 540 de 1997 da ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997).

Os corantes são um exemplo de aditivos extremamente importantes para a conquista do mercado consumidor não só pela indústria alimentícia, mas também na indústria farmacêutica e de consumo em geral, pois a cor está intimamente relacionada ao aspecto visual para a seleção de determinado produto (PINHEIRO; ABRANTES, 2015).

Os corantes sintéticos ou corantes artificias fornecem uma ampla gama de cores, proporcionando praticamente todas as tonalidades do espectro visível de cor. A maioria destes aditivos apresentam alta estabilidade com relação à temperatura, luz, oxigênio e pH, oferecendo ainda uniformidade na cor conferida e alta capacidade de colorir (PERON, 2015).

Na produção industrial de alimentos predomina o uso de corantes artificiais, sendo que estes apresentam um custo relativamente menor que os corantes naturais e não apresentam sabor desagradável a exemplo de alguns corantes provenientes de matérias-primas naturais como os derivados de beterraba ou cenoura (PINHEIRO; ABRANTES, 2015; RODRIGUES, 2015).

No Brasil as Resoluções nº. 387 e nº. 388 ambas de 1999 (ANVISA, 1999a, 1999b) estabelecem quais os tipos e seus limites de corantes utilizados em Balas, Confeitos, Bombons, Chocolates e Similares, assim como para sobremesas. Dentre estes aditivos é encontrado os corantes Amaranto ou Bordeaux S. (INS 123), Ponceau 4R (INS 124) e Azorrubina (INS 122), estes compostos tiveram seu uso proibido em

alguns países como os Estados Unidos, Japão, Inglaterra, sendo que na União Europeia são permitidos sob análises constantes por serem substâncias consideradas como potenciais carcinogênicos (JECFA/FAO, 2014; NEOH et al., 2015).

O consumidor com idade entre 3 e 9 anos, considerado infantil, é o principal público alvo dos alimentos coloridos, pois a indústria investe nestes produtos por serem mais atrativos e influenciarem sua escolha. Porém, a presença de reações alérgicas (eczemas e dermatites), intolerância alimentar, asma, bronquite, doenças cancerígenas e até casos de hiperatividade principalmente em crianças, já foram relatados por muitos estudos. Acredita-se que as crianças apresentam mais suscetibilidade as reações adversas provocadas pelos aditivos alimentares devido a "imaturidade fisiológica" tendo seus mecanismos de defesa pouco desenvolvidos (ALEXANDRE; TEIXEIRA, 2007; IDEC, 2008; PINHEIRO; ABRANTES, 2015; REIS et al., 2010).

Segundo Lelis, (2015) existe a possibilidade que os corantes sintéticos alimentícios adicionados aos alimentos e bebidas ultrapassem os níveis autorizados pela Resolução 388 de 1999 pela ANVISA.

Na reportagem intitulada *"Infância colorida e...feliz?"* publicada na edição de junho de 2008 da revista IDEC (Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor) (IDEC, 2008), é demonstrado um teste realizado pelo Instituto de Defesa do Consumidor para a presença de corantes em gelatinas de marcas conhecidas e consumidas no Brasil, e o que mais chama a atenção da pesquisa é a concentração do corante Bordeaux S. no sabor cereja das marcas Dr. Oetker, Royal e Sol com índices relativamente acima do permitido pela legislação.

A Resolução nº. 388 de 1999 (ANVISA, 1999b) estabelece as funções e os limites máximos de aditivos para a categoria alimentos (sobremesas). Neste decreto está estabelecido as quantidades máximas admitidas por 100 g ou 100 mL de alimentos pronto para consumo, mas no Brasil pouco é respeitado estes limites.

O potencial impacto dos corantes alimentícios sobre a saúde humana, está cada vez mais no centro das atenções. Opiniões de cientistas e legisladores tem tido peso para determinadas decisões (LELIS, 2015). Esse fator fez com que as indústrias investissem em pesquisas relacionadas a corantes de fontes naturais que pudessem substituir os corantes sintéticos, aumentando assim o interesse pela busca de fontes naturais de tais compostos (PRADO; GODOY, 2003).

3.4 Corantes naturais

As principais tendências para o mercado dos corantes naturais em alimentos e bebidas, está relacionado diretamente às exigências do consumidor que está mais consciente em relação à saúde e bem-estar (ALMEIDA, 2008). Nesse sentido, o consumidor busca um produto com função nutricional e funcional além do aspecto visualmente atraente. Ou seja, as refeições podem ser rápidas, mas com valor nutritivo agregado. Hoje, o alimento, além de ser uma necessidade é um prazer, prazer sem culpa com diversão, interatividade e surpresa (ALMEIDA, 2008).

A expressiva notoriedade que os corantes naturais vêm ostentando deve-se não só à tendência mundial de consumo de produtos naturais, mas principalmente às propriedades funcionais e nutricionais atribuídas a alguns desses pigmentos. Segundo estimativas, a demanda mundial por corantes naturais cresce, em média, 5% ao ano, contra 2% dos corantes sintéticos ou artificiais (INSUMOS, 2011).

Conforme Brack et al. (2014) encontram-se 190 espécies frutíferas de ocorrência nativa no Rio Grande do Sul, sendo distribuídas em 90 gêneros e 43 famílias botânicas, porém as 6 famílias com maior riqueza foram *Myrtaceae,* Solanaceae, Arecaceae, Cactaceae, Passifloraceae e Annonaceae. A diversidade botânica faz do Brasil umas das maiores fontes naturais para obtenção de compostos bioativos, com destaque para os que tem poder colorante.

Os corantes naturais fazem parte da história econômica do Brasil com relativa importância, inclusive o nome do País é devido a árvore do Pau-brasil (*Caesalpinia echinata*), que ao longo do século XVI foi fonte de corante vermelho exportados para a Europa pelos portugueses para o tingimento de tecidos (DALLOGO; SMANIOTTO, 2005).

Como são extraídos diretamente das plantas, os corantes naturais contribuem para o desenvolvimento sustentável. A cadeia do cultivo dessas substâncias agrega pessoas no plantio, colheita, extração e em todo o processo produtivo, gerando empregos e renda em diversos locais do mundo. Nos países da Europa, a preferência crescente dos consumidores por alimentos livres de cores sintéticas e uma legislação atuante propiciaram um crescimento mais rápido da produção. No Brasil os movimentos de crescimento da produção são quase imperceptíveis, ficando mais no processo do plantio de urucum para exportação da semente ainda em bruto (INSUMOS, 2011).

As principais matérias-primas testadas até o momento, dos quais se extraem os corantes naturais são conhecidas e consumidas pela grande maioria da população Brasileira, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Principais corantes naturais e suas matérias-primas.

Corante Natural	**Matérias-Primas**
Antocianinas	Beringela, morango, uva, açaí, maçã, repolho roxo, flores
Carotenóides	Cenoura, pimentão vermelho, tomate, urucum
Betalainas	Beterraba, beganville
Curcumina	Açafrão
Carmin	Cochonilha – *Sactylapius coccus costa*
Bixina/Norbixina	URUCUM
Clorofila	Frutos e folhas
Licopeno	Tomate, goiaba, mamão, melancia
Monascus	Fungos do gênero *Monascus*

Fonte: Almeida, 2008.

Para a extração dos corantes naturais é necessário determinar o método adequado e específico para a retirada do pigmento de cada tipo de matéria-prima de forma que se preserve os compostos bioativos presentes. Araújo (2005) cita alguns processos físico-químicos como, dissolução, precipitação, infusão, bioquímicos por fermentação de matéria-prima vegetal ou animal entre outros.

De certo modo, é temeroso considerar os corantes naturais como absolutamente seguros e inócuos em relação à saúde. Deve ser considerado os diferentes componentes presentes em suas formulações, que podem variar com a origem e método de extração; os solventes utilizados nas extrações podem ser prejudiciais e tóxicos, a exemplo de alguns solventes orgânicos; possíveis presença de contaminantes e impurezas na matéria-prima e no processo de produção e também a contaminação microbiana (SOUZA, 2012).

Mesmo com algumas desvantagens em relação aos corantes artificiais, como a baixa estabilidade e altos custos, os corantes naturais são utilizados há algum tempo sem evidências de causar riscos à saúde do consumidor e com possibilidades de prevenção de determinadas doenças, sendo que muitos pesquisadores creditam tais benefícios a presença de compostos bioativos (SOUZA, 2012).

3.5 Compostos bioativos

Compostos bioativos são considerados constituintes naturalmente presentes nos alimentos ou adicionados aos processos, que atuam na saúde, prevenindo ou auxiliando no tratamento. O acréscimo destes compostos pode caracterizar o alimento como funcional, terminologia para classificar todo e qualquer alimento ou ingrediente que além de suprir as necessidades energéticas, promovem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde (GONÇALVES, 2015).

Alimentos de origem vegetal são fontes ricas de energia, proteína, vitaminas e minerais e pode ser a única ou principal fonte de vitamina C, ácido fólico, fibras e compostos bioativos. A ingestão insuficiente de compostos bioativos provenientes de vegetais constitui importante componente de risco das doenças crônicas não transmissíveis, contribuindo na mesma magnitude do consumo excessivo de energia e de gorduras totais e saturadas na dieta. Isso demonstra que os compostos bioativos, da mesma forma que os demais nutrientes, são essenciais para que se atinja a nutrição completa para o organismo desenvolver longevidade (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

Sendo os alimentos funcionais e os de origem vegetal considerados fontes de compostos bioativos é importante indicar tais substâncias. De forma geral as vitaminas hidrossolúveis, e lipossolúveis, compostos fenólicos e sulfurados são indicados como bioativos (GONÇALVES, 2015).

3.6 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que possuem anéis aromáticos com um ou mais substituintes hidroxilas que podem se apresentar como moléculas simples ou polímeros. Estes compostos são responsáveis pelas características de cor e *flavor* de frutas e vegetais (GONÇALVES, 2015).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário sintetizados pelos vegetais, como resposta a condições de extremo estresse que dessa forma busca proteger a planta contra patógenos e predadores (NACZK; SHAHIDI, 2006).

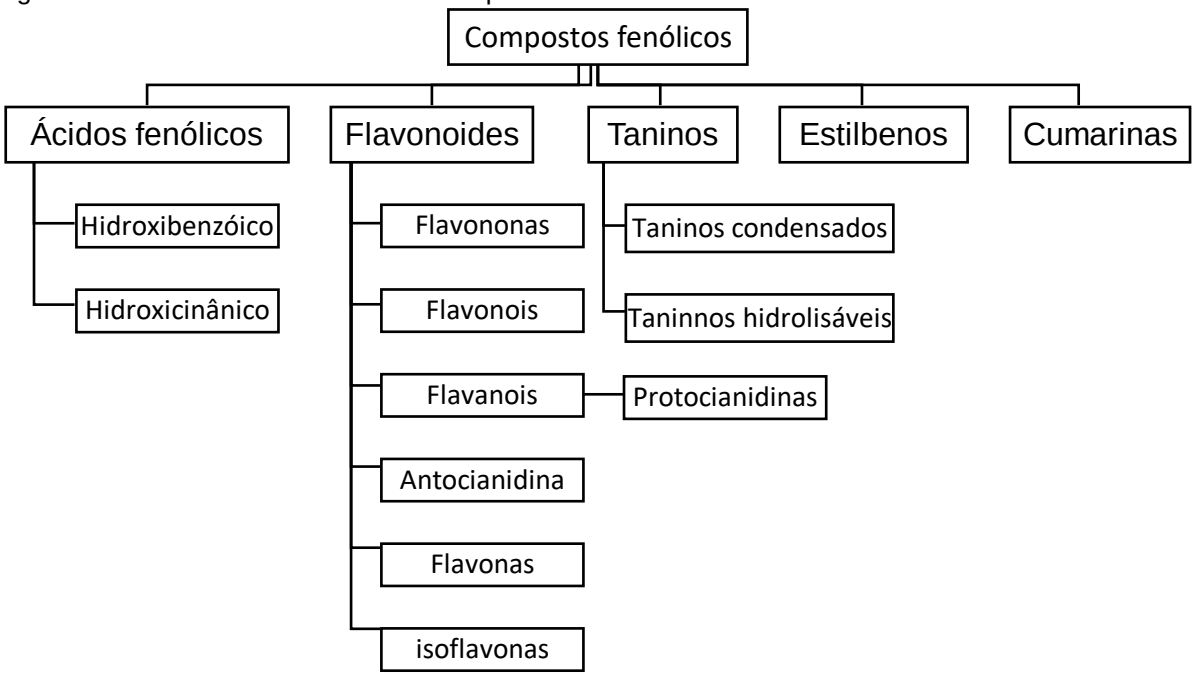
Estes compostos podem ser biossintetizados por meio de diferentes rotas como a rota do ácido mevalônico e a rota do ácido chiquímico, razão pela qual constituem

um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico, com aproximadamente 10.000 compostos. A rota do ácido chiquímico é a participante da biossíntese da maioria dos fenóis vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2006).

As plantas contêm diversos compostos fenólicos como fenólicos simples, ácidos fenólicos, antocianinas, derivados de ácido cinâmico e flavonoides. Estes fenólicos estão distribuídos em larga escala em frutas, vegetais, semente e grãos. Todas as classes de fenólicos apresentam os requisitos estruturais de sequestradores de radicais livres (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As classes e subclasses dos compostos fenólicos estão demonstrados na Figura 1.

Figura 1 – Classes e subclasses dos compostos fenólicos



Fonte: YOO; SALIBA; PRENZLER, 2010.

Nos alimentos, os compostos fenólicos são responsáveis pelas características sensoriais como aroma, adstringência e amargor, além da estabilidade oxidativa dos produtos de origem vegetal (CASARIN, 2013). As antocianinas que fazem parte da subclasse dos flavonoides são responsáveis pela coloração do vermelho alaranjado ao azul de algumas frutas e vegetais como cereja, jabuticaba, uva, berinjela, morango (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

A relevância destes compostos está relacionada à ação sequestradora de radicais livres, com possibilidades de redução das patologias, em especial as

relacionadas a doenças degenerativas, devido a sua capacidade antioxidante (GIBNEY; MACDONALD; ROCHE, 2006).

Acredita-se que a capacidade antioxidante dos fenólicos é relacionada a presença de grupos hidroxilas presentes em suas estruturas químicas e a alta reatividade dos mesmos, fatores considerados críticos para a neutralização dos radicais livres (ELISIA et al., 2007).

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é capturado pelos radicais livres R* e ROO* com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim se formam espécies inativas para as reações em cadeia e um radical inerte (A*) oriundo do antioxidante. Este radical, que é estabilizado por ressonância, fica sem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (CASARIN, 2013). Conforme demonstrado na Figura 2.

Figura 2 - Reações de ação para os antioxidantes primários.

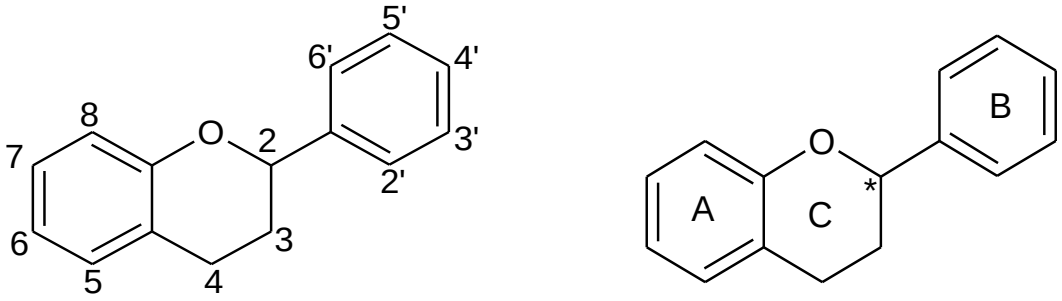
$$ROO^* + AH \rightarrow ROOH + A^*$$
$$R^* + AH \rightarrow RH + A^*$$

Fonte: Próprio autor, 2016.

3.7 Flavonoides

Os flavonoides correspondem a um grupo de substâncias fenólicas encontradas amplamente nos vegetais. São responsáveis pelos pigmentos naturais que apresentam ação protetora à oxidação dos tecidos vegetais (GONÇALVES, 2015). A estrutura básica destas substâncias é formada por uma molécula com 15 átomos de carbono representados por uma estrutura do tipo C_6-C_3-C_6, (A-C-B) composta por dois anéis aromáticos A e B e um átomo de oxigênio formando o núcleo flavona, um heterociclo oxigenado, C. Os flavonoides são derivados do fenilpropano (C_6-C_3) e três unidades de acetato (C_3). Como mostra a Figura 3.

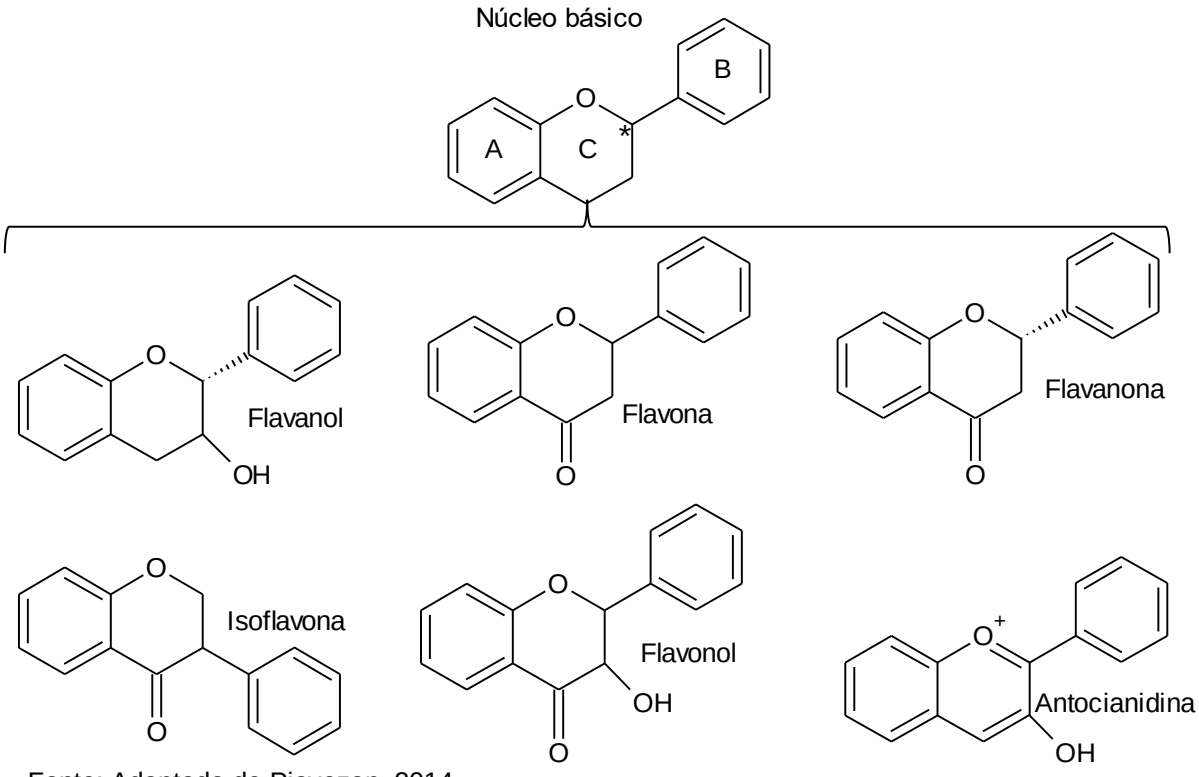
Figura 3 - Estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: Adaptado de Grotewold, 2006. (* Carbono quiral)

Os flavonoides são ainda divididos com base na ligação do anel B para o anel C, bem como os estados de oxidação e os grupos funcionais do anel C (*carbono quiral). Podem ser divididos em 14 classes, sendo que 6 grupos são incluídos na dieta humana (Figura 4). Estes compostos encontram-se associados a propriedades biológicas e podem ser encontrados em diferentes vegetais. As antocianinas são pigmentos naturais amplamente encontrados em uvas, morangos, amora-preta, açaí e conferem coloração vermelha ao roxo. As flavanonas são encontradas principalmente em frutas cítricas, as flavonas são mais encontradas em ervas aromáticas e grãos de cereais, enquanto as isoflavonas ocorrem em legumes e sementes oleaginosas (CASARIN, 2013; PIOVEZAN, 2014).

Figura 4 – Núcleo básico Principais classes de compostos flavonoides.



Fonte: Adaptado de Piovezan, 2014

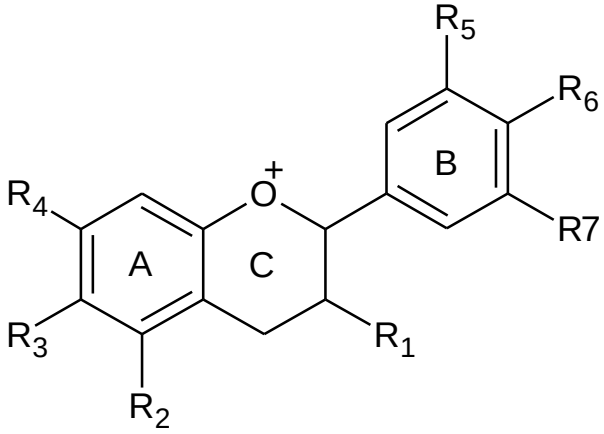
3.8 Antocianinas

A palavra antocianina tem origem do grego *anthos* (flor) e *kianos* (azul). As antocianinas compõem o subgrupo dos compostos flavonoides, responsável pela pigmentação principalmente de flores e frutos, é o mais relevante grupo de pigmentos de origem vegetal. Estes pigmentos vão desde laranja brilhante, rosa, vermelho, magenta, violeta, roxo e azul. Em função de sua alta solubilidade em água são promissores como corantes naturais na indústria alimentícia (LOPES et al., 2007; PIOVEZAN, 2014).

A estrutura química das antocianinas tem como base uma estrutura policíclica de quinze carbonos (LÓPEZ et al., 2000). Como mostrado na Figura 5.

A estrutura básica é denominada de 2-fenilbenzopirona do sal *flavilium*. As antocianinas ocorrem como glicosídeos de poli-hidroxi e/ou polimetoxi derivados do sal e diferem no número de grupos hidroxila e grupos metoxi presentes, tipos, números, sítios de ligação dos açúcares na molécula e tipos e números de ácidos alifáticos ou aromáticos que estão ligados aos açúcares da molécula (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Figura 5 – Estrutura química básica das antocianinas.



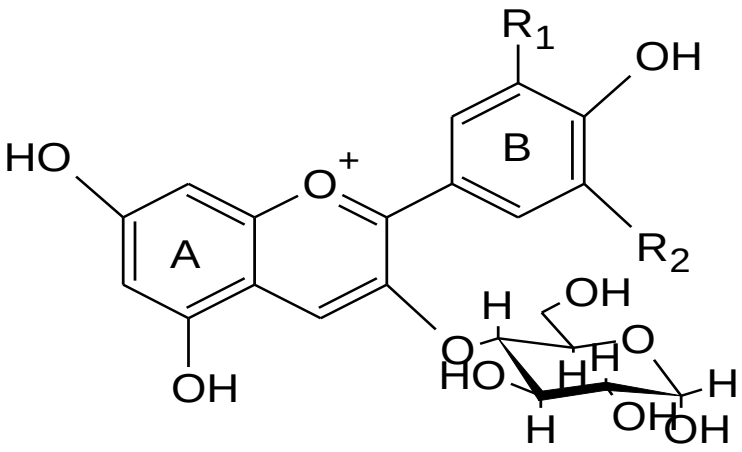
Fonte: Adaptado de López et al., 2000.

A molécula de antocianina (Figura 6) é constituída por duas ou três porções: uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, frequentemente acompanhada por um grupo de ácidos orgânicos. Na literatura são citadas 22 agliconas, das quais 19 ocorrem naturalmente e apenas seis como a pelargonidina, cianidina, delfinidina,

peonidina, petunidina e malvidina são importantes em alimentos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; MALACRIDA; MOTA, 2006).

Antocianinas livres não são comumentes encontradas em plantas, porém ocorrem com mais frequência na forma heteroglicosidica com uma ou mais moléculas de açúcar ligado em diferentes posições hidroxiladas na estrutura básica. A glicosilação é observada com mais frequência na posição 3 do anel aromático. Acredita-se que os açúcares conferem estabilidade e solubilidade à glicona, e as principais diferenças entre elas consiste no número de grupos hidroxilados, o número de açucares ligados à sua estrutura e a natureza. Os açúcares mais comumentes encontrados são glicose, raminose, xilose, arabinose, galactose e frutose (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997; PIOVEZAN, 2014).

Figura 6 – Estrutura química das antocianinas, posições de acilação e glicosídeos mais comuns presentes na natureza.



Aglicona (Estrutura do anel B)		Substituição glicosídica (Substituição nas posições 3 e 5)	Acilação (esterificação das hidroxilas do açúcar)
$R_1 = R_2 = H$	Pelargonidina	D-glicose	Ácidos cinâmicos
$R_1 = OH = R_2 = H$	Cianidina	D-galactose	p-cumárico
$R_1 = R_2 = OH$	Delfinidina	D-xilose	Ferúlico
$R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$	Peonidina	L-ramnose	Cafeíco
$R_1 = OCH_3$, $R_2 = OH$	Petunidina	L-arabinose	
$R_1 = R_2 = OCH_3$	Malvidina	Rutinose	Ácidos alifáticos
		Soforose	Acético
		Sambubiose	Malônico

Fonte: Adaptada de Malacrida e Motta, 2006.

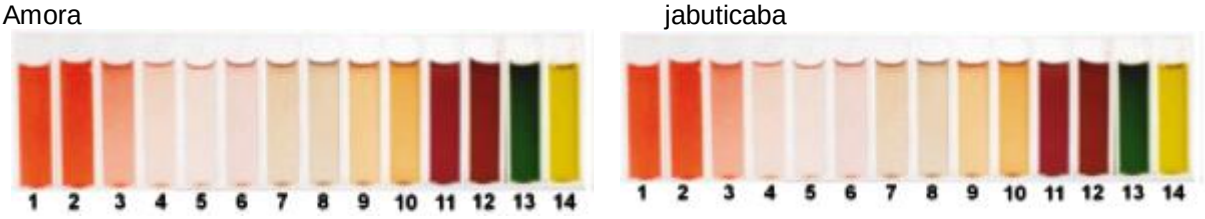
Além de conferir cor as antocianinas apresentam grande potencial em aplicações para fármacos, nutracêuticos e como compostos terapêuticos. O consumo de antocianinas como corantes alimentícios pode estar associado a hábitos saudáveis devido aos benefícios para a saúde humana (BARCZAK, 2005). Entre os benefícios à saúde, vários pesquisadores relacionam a redução do risco de doenças coronárias, atividade anticancerígena, redução do risco de acidentes cardiovasculares, e efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e acuidade visual (BARCZAK, 2005; TEIXEIRA; STRINGHETA, 2008; WALLACE, 2011; WANG; HE; LI, 2010).

Existem muitas pesquisas para desenvolver corantes alimentícios a partir de fontes naturais, que ofereçam possibilidades de substituição ou minimização do uso de corantes sintéticos, porém, seu uso ainda pode ser considerado restrito em funções de limitações como a disponibilidade de matéria-prima produtora de pigmentos na quantidade e qualidade requerida para o processamento industrial (CASARIN, 2013).

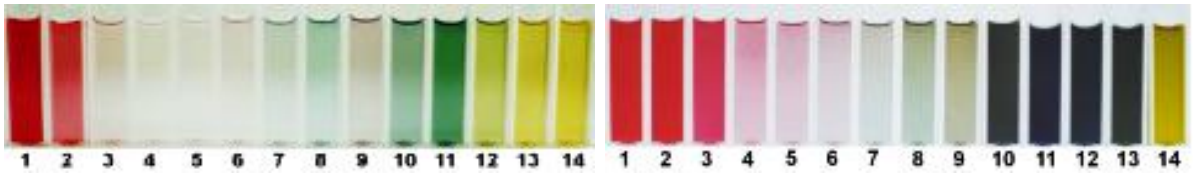
Outros fatores amplamente citados e relacionados às dificuldades de obtenção de corantes estão relacionados com a instabilidade das antocianinas e vários pesquisadores citam que entre estes fatores estão a influência do pH, temperatura, incidência de luz, influência da copigmentação, presença de metais como alumínio, presença de oxigênio e concentração do corante (FIGUEIREDO et al., 2008; LOPES et al., 2007; MONCADA et al., 2003).

O pH além de afetar a estabilidade das antocianinas, afeta diretamente a cor. Para valores de pH ácido, a antocianina é vermelha, mas com o aumento do pH a intensidade da cor diminui e em solução alcalina reverte na cor azul, porém é instável (MAZZA; BROUILLARD, 1987). Essas mudanças de cores são amplamente discutidas no trabalho de Terci e Rossi (2002) que analisa antocianinas de diferentes fontes como amora, jabuticaba, jambolão e uva e obtém resultados diferentes para cada fonte fornecedora entre as mesmas faixas de pH, como mostra a Figura 7.

Figura 7 – Escala de cores para diferentes pHs (1 à 14).



Jambolão uva



A manipulação de alimentos durante o processo sob aquecimento provoca rápida destruição das antocianinas. Logo, processos utilizando baixo tempo em alta temperatura têm sido recomendados para melhor retenção dos pigmentos (MALACRIDA; MOTTA, 2006).

Segundo Malien-Aubert; Dangles; Amiot, (2001) a copigmentação intermolecular desempenha um papel fundamental na proteção da cor das antocianinas. Corantes ricos em flavonoides e com maior relação copigmento/pigmento mostram uma estabilidade e intensidade maior da cor. Vários compostos atuam como copigmento de antocianinas, com destaque para os aminoácidos, ácidos orgânicos, flavonoides, alcaloides sendo que a presença de flavonoides não antociânicos podem proteger as antocianinas contra degradação (LOPES et al., 2007).

Os complexos metálicos de antocianinas são comuns no reino vegetal. A complexação metálica estabiliza a cor dos alimentos que contém antocianinas. Os íons de cálcio, ferro, alumínio, demonstram certa proteção pois formam produtos insolúveis, estes produtos apresentam maior estabilidade quando submetidos a fatores como calor, pH e oxigênio (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; LOPES et al., 2007).

As antocianinas podem ser aplicadas não somente em bebidas e alimentos, mas em toda linha de doces, balas, produtos farmacêuticos e cosméticos (PERON, 2015). Somando-se a essas propriedades sua alta solubilidade em água e sua baixa toxicidade, as antocianinas tornam-se adequadas a aplicações industriais como corantes (BURIN et al., 2011).

3.9 Palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius)

A juçara (*Euterpe edulis* Martius), pertence à família das *Arecaceae,* sendo do gênero Euterpe. É típica da região da Mata Atlântica, uma floresta que se estende do sul Baiano até o litoral do Rio Grande do Sul (LORENZI, 2006). Conforme mostra a Figura 8.

Figura 8 – Distribuição da palmeira juçara no Brasil.

Fonte: Turini, 2013.

A palmeira juçara produz palmito de excelente qualidade e rendimento, porém a exploração extrativista levou ao esgotamento da espécie nas reservas naturais. Produz também frutos com propriedades organolépticas e nutritivas similares às do açaí (SILVA; BARRETTO; SERÔDIO, 2004).

Considerando que a palmeira juçara corre o risco de extinção em função da extração clandestina do palmito, o uso do fruto na alimentação humana, revela-se como uma alternativa de grande potencial econômico e socioambiental, ao agregar valor à atividade agrofamiliar da região, contribuindo ao mesmo tempo para a preservação da espécie (SILVA; BARRETTO; SERÔDIO, 2004).

A Palmeira Juçara produz um fruto semelhante ao Açaí da Amazônia, é uma palmeira que chega a atingir de 20 a 30 m de altura, solitárias ou múltiplas, estão em áreas de solo pouco drenado e baixas elevações. O ciclo para a produtividade pode demorar de 6 a 7 anos. A sua dispersão é feita por pássaros e pequenos mamíferos, ela tem apenas uma estirpe (caule) e não produz perfilho o que acarreta na morte da planta após extração do palmito (ROGEZ, 2000).

A *Euterpe edulis* Martius apresenta grande variação no peso de seus frutos e sementes, variando de 1000 a 2000 sementes por cacho. Os cachos são formados por vários frutos que medem de 15 a 20 milímetros de diâmetro (LORENZI; DE SOUZA, 1996).

Os frutos apresentam uma coloração roxa escura devido à presença de antocianinas e são caracterizados por uma única semente, que constitui cerca de 80% do volume total. Um cacho produz 4,45 kg em média de frutos que oferecem um volume médio de 3,4 litros de polpa (TURINI, 2013).

Figura 9 – Cacho de juçara.

Fonte: Próprio autor, 2015.

Figura 10 – Palmeira juçara.

Fonte: Próprio autor, 2015.

Estudos relatam que a polpa de juçara contém uma grande quantidade de antioxidantes, entre eles antocianinas e compostos fenólicos (SCHULTZ, 2008), podendo chegar a níveis de 90,7% a capacidade em sequestrar radicais livres (FRAGA et al., 2014).

As antocianinas na presença de cátions de alumínio, ferro e outros metais podem formar produtos insolúveis. Estes produtos, em relação às antocianinas livres, principalmente no caso do alumínio, podem proporcionar maior estabilidade com relação a fatores como calor, pH e oxigênio (MONCADA et al., 2003; BOBBIO; BOBBIO, 1995). Na polpa da juçara foram detectados a presença em quantidades consideráveis de potássio, ferro, sódio, fósforo, cálcio e alumínio caracterizando a polpa da juçara como fontes ricas destes minerais para a dieta humana (RIBEIRO; MENDES; PEREIRA, 2011).

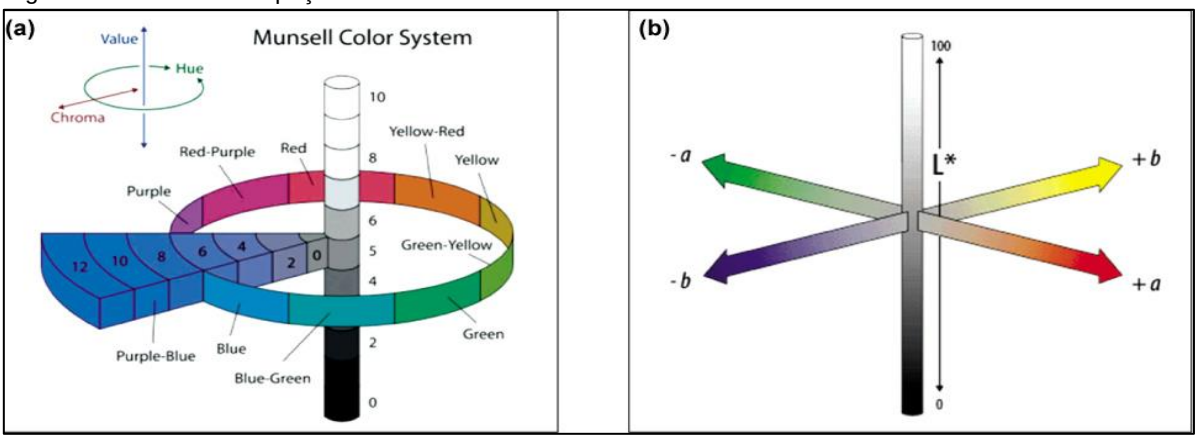
Em função de sua riqueza de compostos nutritivos e também sua forte coloração roxa, ter maior resistência quando submetido aos processos de aquecimento em extratos brutos, a juçara pode revelar-se uma boa alternativa para a produção de corantes naturais na forma de extrato em pó ou até mesmo de extrato líquido (PERON, 2015; RIBEIRO; MENDES; PEREIRA, 2011).

3.10 Análise colorimétrica

Na análise colorimétrica o L* representa a luminosidade, que varia de 0 a 100, sendo o zero corresponde ao preto total e 100 o branco total, a* é o eixo de croma do verde (-) ao vermelho (+) e b* é o eixo de croma do azul (-) ao amarelo (+).

O espaço de cor L*C*h utiliza o mesmo diagrama do espaço de cor L*a*b*, mas emprega coordenadas cilíndricas no lugar de coordenadas retangulares, também conhecido como Sistema Munsell de cores (Figura 11a). O valor de L* é o mesmo encontrado no diagrama L*a*b* (Figura 11b). O valor de C* cromaticidade no centro é 0 para uma cor acromática e aumenta conforme se distancia do centro. O ângulo de tonalidade (h°) inicia no eixo +a* e é expresso em graus no sentido anti-horário (a).

Figura 11 – Gráfico do espaço Mansell de cores



Fonte: Konica Minolta

O valor de croma C*, que representa a pureza da cor foi calculado conforme a equação 1.

$$C^* = \sqrt[2]{(a^*)^2 + (b^*)^2} \qquad \text{Equação 1}$$

A medida do ângulo h°, que representa a tonalidade da cor foi calculado pela equação 2.

$$H° = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \qquad \text{Equação 2}$$

4 METODOLOGIA

4.1 Matéria-Prima

Para a realização deste trabalho foi utilizado fruta *in natura* e a polpa processada dos frutos da Palmeira juçara (*Euterpe edulis*) fornecidas pela empresa Açaí dos Sinos localizada no município do Caraá - RS, no mês de maio de 2016. As polpas processadas faziam parte do lote 02 e as frutas *in natura* sem controle de lote mas com discriminativo de colheita entre janeiro e maio de 2016.

4.2 Extração do biocorante

A extração do biocorante da juçara foi realizada utilizando dois métodos:
o primeiro método descrito por Nazaré; Oliveira; Carvalho (2002) com algumas modificações. A extração será constituída de maceração a frio (Temperatura ambiente de 23 ± 2 °C), utilizando como solvente extrator álcool etílico 70% e acetona particionado em 80:20 (v/v), na proporção de 1:2 (m/v) e acidificado com ácido clorídrico a pH 2,0. O material foi mantido em maceração por 48 horas em temperatura ambiente, em recipiente de vidro âmbar tampado, sendo homogeneizado por agitador mecânico Fisatom modelo 715, com agitação de 1500 rpm a cada 6 horas por vinte minutos. Após esse período, o material foi passado em peneira de 210 µm de malha e transferido para recipientes de vidro âmbar e mantidos a 4 ºC, foram realizados mais duas extrações. Os extratos foram reunidos e filtrados a vácuo. O extrato filtrado foi concentrado em evaporador rotatório marca Fisatom modelo 810, em temperatura de 35 °C para redução do volume. O extrato concentrado foi transferido para vasilhames de vidro âmbar e armazenado a 4 °C até o momento da secagem. As extrações foram realizadas em triplicata.

O segundo método foi realizado conforme Soares; Cavalheiro, (2001) utilizando como solvente extrator H_2O a 80 °C acidificada com ácido clorídrico a pH 2,00 e imersão por vinte minutos em proporção de 1:2 (m/v) em agitação mecânica de 1500 rpm com agitador Fisatom modelo 715, em seguida a solução ficou em repouso por mais cinco minutos. Foram realizadas mais duas extrações, o material foi passado em peneira de 210 µm de malha e transferido para recipientes de vidro âmbar e mantidos a 4 ºC. Os extratos foram reunidos e filtrados a vácuo. O extrato filtrado foi concentrado

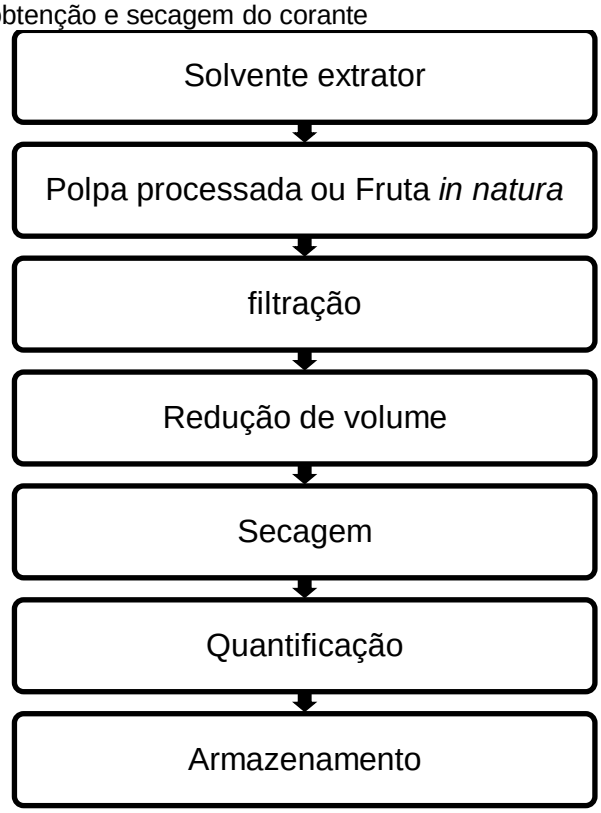
a vácuo em evaporador rotatório marca Fisatom modelo 810, em temperatura de 35 °C para redução do volume. O extrato concentrado foi transferido para vasilhames de vidro âmbar e armazenado a 4 °C até o momento da secagem. As extrações foram realizadas em triplicata.

4.3 Secagem do biocorante

Foram testados dois métodos de secagem, no primeiro método os extratos foram dispostos em bandejas e levados a secagem em estufa de circulação de ar forçado marca Quimis modelo RT e temperatura de 45 °C por 24 horas. No segundo método o extrato foi disposto em recipientes com lâminas de 20 mm de altura e submetido a secagem por liofilização em liofilizador de bancada, marca Terroni modelo LS3000, com temperatura de operação -50° C por período de 24 horas. No final de cada método de secagem foram realizadas as quantificações de rendimento do extrato do corante por peso de fruta *in natura* ou polpa da fruta (% de m/m).

O processo de extração e secagem do corante é demonstrado na Figura 11:

Figura 12 : processo de obtenção e secagem do corante



Fonte: Próprio autor

4.4 Determinação de Umidade

A umidade foi determinada pela perda por dessecação Segundo o método do Instituto Adolfo Lutz (2008). Foram pesadas 500 mg de cada biocorante e colocados em cápsulas de porcelanas previamente aquecidas taradas. Foram levadas em estufa marca Brasdonto, modelo 1 por 3 horas em temperatura de 105 °C. As amostras foram resfriadas em dessecador e pesadas em balança analítica marca Even modelo RS232. O processo de aquecimento e resfriamento foi repetido até peso constante. Para a matéria-prima foram utilizados 5 g de produto e seguido os mesmo processos de secagem, resfriamento e pesagem até que a fruta alcançasse peso constante. O resultado foi expresso em porcentagem de umidade. O teste foi realizado em triplicata.

4.5 Análise de Colorimetria

Foi realizado o teste por colorimetria utilizando os parâmetros no sistema CIELAB-HUE. Utilizou-se um colorímetro portátil modelo CR 400 marca Konica Minolta, a amostra do biocorante foi disposta em placas de Petri mantendo-se a mesma camada durante as medições, que foram realizadas sem iluminação especial e através do contato superficial do colorímetro com a amostra.

Para a matéria-prima foram dispostas amostras previamente homogeneizadas de polpa em placas de Petri, mantendo-se a mesma camada. Para as frutas foram selecionadas as de tamanho e cor semelhantes, foram dispostas em camadas nas placas de Petri, sendo que sua cor foi medida imediatamente para evitar a oxidação com a exposição. Os testes de cor nas amostras do biocorante foram realizados de forma semelhante ao descrito anteriormente. Os testes foram realizados em triplicata.

4.6 Determinação dos compostos bioativos

Neste tópico serão descritas as metodologias para determinar as quantidade de compostos bioativos tanto na matéria-prima como no corante após secagem. Os compostos determinados foram antocianinas totais, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH.

4.6.1 Determinação das antocianinas totais

A quantificação das antocianinas totais foi adaptada a partir do trabalho de Teixeira; Stringheta, (2008). Para as análises das amostras do extrato do biocorante foram ressuspensos 20 mg de extrato seco de cada biocorante em 5 mL de etanol acidificado, tendo o volume completado para 10 mL com solução Etanol/HCl (85:15 v/v), formando, dessa maneira, o extrato concentrado, deste extrato foi retirada alíquota de 2 mL e completado para 10 mL com o mesmo solvente, que formou o extrato diluído. Os valores de absorbância foram contrastados com os valores dos brancos Etanol/HCl (85:15 v/v). Para a análise de antocianinas da matéria-prima foi elaborado extração com 40 g de cada matéria-prima em 100 mL de solventes (extrato concentrado), deste extrato foram retirados alíquotas de 0,5 mL e completado o volume para 10 mL formando o extrato diluído. A leitura de ambos os testes foram realizadas a 535 nm (pH 2). Foi utilizado o Coeficiente de Extinção médio ($E^{1\%}$ 1 cm) de diversas antocianinas, adotando-se para o método de pH Único (pH 2,0) valor de 982 (FULEKI; FRANCIS, 1968). O conteúdo total de antocianinas foi expresso em mg de antocianinas por g de amostra.

4.6.2 Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação dos teores de compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com o método 9110 da AOAC (1980), que se baseia na redução em meio alcalino do reagente de Folin-Denis (ácido fosfomolíbdico + tungstato de sódio) pelos fenóis a molibdênio, promovendo coloração azul. A curva de calibração utilizada foi de ácido gálico e as leituras da absorbância realizadas em espectrofotômetro de UV visível marca Dinâmica modelo Halo SB-10 UV-VIS Single Beam a 760 nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por g de extrato de biocorante seco e de mg de ácido gálico por g de polpa ou de fruta em bases secas.

4.6.3 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical DPPH

A atividade antioxidante (AA) foi estimada utilizando o método descrito por Brand-Williams; Cuvelier; Berset, (1995). A solução de 0,06 mM de DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil) será preparada em 100 mL de metanol. Uma alíquota de 100 µL da

solução do biocorante (10 mg de biocorante/100 mL de metanol) foi adicionado a 3,9 mL da solução de DPPH . O decaimento na absorvância a 515 nm foi monitorado em espéctrofotometro marca Dinâmica modelo Halo SB-10 UV-VIS Single Beam a cada 10 minutos até que a reação encontrou o equilíbrio (15 minutos após). Para a matéria-prima foram utilizados alíquotas de 100 µL de extrato dilúidos em 10 mL de metanol de onde foram retirados alíquotas de 100 µL para o teste. O valor de AA foi quantificada como a concentração equivalente de antioxidante necessário para reduzir o valor original do radical em 50% (EC_{50}) expresso em µg/mL.

4.7 Solubilidade do biocorante

Os testes de solubilidade foram realizados segundo metodologia de Vissotto et al. (2006) com algumas modificações. O extrato seco do biocorante foi adicionado em tampão pH 4 na concentração de 40 mg/ml, em temperatura ambiente (23 ± 2 °C), homogeneizado com agitador mecânico marca Fisatom modelo 710 por 20 segundos, após foi centrifugado a 10000 rpm por 10 minutos em centrífuga marca FANEM modelo Excelsa II. O sobrenadante foi quantificado juntamente com o resíduo e o resultado foi expresso em porcentagem de massa solúvel de extrato de biocorante seco por mL de solvente (m/v).

4.8 Estabilidade do biocorante

Para testar a estabilidade das amostras de biocorante foram feitas soluções estoque tampão KCl/HCl para o pH 2,00. Solução estoque tampão citrato/fosfato para os pHs 3,0 até 7,0 e solução estoque tampão ácido bórico/bórax para os pHs 8,00 e 9,00. As soluções estoques foram armazenadas em vidro âmbar.

A estabilidade do biocorante nos diferentes valores de pH foi testada segundo WANG; HE; LI (2010). O biocorante resultante da secagem foi dissolvido em diferentes soluções tampão nas faixas de pH de 2,00 até 9,00 (7,5 mg em 10 mL) em tubos de ensaio separados e armazenados por um período de 15 dias à temperatura ambiente (23 ± 2 °C), sob as mesmas condições. A absorbância de cada amostra de biocorante em diferentes pHs foi determinada a cada dia, no mesmo horário, utilizando-se um espectrofotômetro marca HITACHI modelo U-2800 UV-VIS a 535 nm. O teste foi realizado em triplicata.

4.9 Planejamento experimental

Para a verificação das variáveis que afetaram o processo de produção do biocorante de juçara foi utilizado o método de planejamento fatorial completo com 3 fatores avaliados em dois níveis (Fatorial 2^3), totalizando 8 experimentos, todos realizados em triplicata. Os fatores avaliados foram o tipo de matéria-prima, o tipo de solvente utilizado nas extrações do biocorante e os métodos utilizados na secagem das amostras. Os fatores e seus respectivos níveis de variação são mostrados na Tabela 2 e a matriz de planejamento está descrita na Tabela 3.

Tabela 2 – Planejamento fatorial aplicado à produção do biocorante

Fatores	Níveis	
	-1	+1
Matéria-Prima	Polpa	Fruta
Solvente	Água	Etanol
Secagem	Estufa	Liofilizador

Tabela 3 – Matriz do planejamento fatoria 2^3, em sua forma codificada e real.

Experimento	Amostra	Matéria-prima	Solvente	Secagem
1	PEAq	-1	-1	-1
2	FEAq	+1	-1	-1
3	PEEt	-1	+1	-1
4	FEEt	+1	+1	-1
5	PLAq	-1	-1	+1
6	FLAq	+1	-1	+1
7	PLEt	-1	+1	+1
8	FLEt	+1	+1	+1

4.10 Análise Estatística

Todos os testes foram realizados em triplicata e os resultados em base seca (BS) expressos como média ± desvio padrão. Foram utilizados os softwares Statistica 7,00 e o Excell 2016 para realizar a elaboração dos testes estatícos de médias e desvio padrão, bem como para a elaboração dos gráficos utilizados nos testes de estabilidade dos biocorantes. Foi realizado o teste de Tukey para determinar a diferença das médias com nível de confiança de 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação da Qualidade da matéria-prima

Ao início do trabalho foi de interesse analisar a qualidade da matéria-prima, pois a mesma foi obtida diretamente da Indústria. Logo, conforme o lote, teria a possibilidade de diferenças com relação aos teores de umidade, cor e compostos bioativos.

5.1.1 Determinação de umidade na matéria-prima

A Tabela 4 apresenta o teor de umidade obtido das frutas e polpas utilizadas neste trabalho. Na Tabela estão inseridos códigos que representam a matéria-prima utilizada para cada tipo de extração e secagem. Sendo assim, FEEt – fruta, extração etanólica e seca em estufa; FEAq – fruta, extração aquosa e seca em estufa; FLAq – fruta, extração aquosa e seca em liofilizador; FLEt – fruta, extração etanólica e seca em liofilizador; PEEt – polpa, extração etanólica e seca em estufa; PEAq – polpa, extração aquosa e seca em estufa; PLAq – polpa, extração aquosa e seca em liofilizador; PLEt – polpa, extração etanólica e seca em liofilizador;

Tabela 4 – Determinação de umidade na matéria-prima.

Matéria-prima	Umidade (%)
Fruta (FEEt)	$45,69^{b} \pm 0,40$
Fruta (FEAq)	$48,21^{b} \pm 1,25$
Fruta (FLAq)	$44,98^{b} \pm 0,85$
Fruta (FLEt)	$45,01^{b} \pm 0,51$
Polpa (PEEt)	$93,24^{a} \pm 0,91$
Polpa (PEAq)	$91,27^{a} \pm 0,78$
Polpa (PLEt)	$94,44^{a} \pm 0,90$
Polpa (PLAq)	$93,74^{a} \pm 0,39$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Analisando a Tabela 4 pode-se concluir que a umidade para as frutas não diferiu entre as amostras significativamente. Os valores obtidos de 44,98% até 48,21% são bastante semelhantes aos obtidos por Borges (2013) para a juçara colhida na

região da Lagoa da Conceição em Santa Catarina que foi de 39,58% até 44,61%. Porém esse teor de umidade é menor dos que foram encontrados para as frutas coletadas na região Costeira de Pirajubaé (SC) que foram de 55,7% até 64,7%. Bicudo (2014) encontrou teores maiores de umidade para as frutas da região de Antonina (PR) que foram de 60,19% até 70,35%.

Esses dados com diferenças significativas são bastante comuns, sendo que a matéria-prima é totalmente dependente de condições climáticas como precipitação de chuvas, umidade relativa do ar, condições de terreno como umidade do solo, quantidade de dias frios ou quentes, insolação e estação do ano como verão ou inverno (BICUDO, 2014).

Para as polpas processadas comercialmente foram encontrados teores de umidade que não tiveram variações significativas entre as amostras ($p<0,05$), que foram de 91,27% até 94,44%. Esses valores resultam em teores de 8,73% e 5,56% de matéria seca, respectivamente.

Não existe uma legislação para as polpas de origem da palmeira juçara no Brasil, mas a orientação dada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é que se faça aplicação da legislação elaborada para a polpa do Açaí (*Euterpe Oleracea* Mart.) através da Instrução Normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000 do MAPA (Ministério da Agricultura e do Abastecimento), onde consta as seguintes caracterizações para a polpa dessa fruta:

“De acordo com a adição ou não de água e seus quantitativos, o produto será classificado em:

1. Polpa de açaí é a polpa extraída do açaí, sem adição de água, por meios mecânicos e sem filtração, podendo ser submetido a processo físico de conservação.
2. Açaí grosso ou especial (tipo A) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando acima de 14% de Sólidos totais e uma aparência muito densa.
3. Açaí médio ou regular (tipo B) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando acima de 11 à 14% de Sólidos totais e uma aparência densa.
4. Açaí fino ou popular (tipo C) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando de 8 à 11% de Sólidos totais e uma aparência pouco densa”.

Podemos concluir que os resultados encontrados para as polpas comerciais de juçara podem caracteriza-las como “Açaí fino” em função do volume de água adicionado na elaboração e que das 4 amostras analisadas, 3 estão abaixo do que é permitido pela legislação atualmente empregada como padrão que é de 8 a 11%. Os

valores obtidos de 6,76% (PEEt), 5,56% (PLEt), 6,26% (PLAq) demonstram falta de padronização da extração das polpas na indústria, assim como a falta de um processo de controle de qualidade como “Boas Práticas de Fabricação (BPF).

Schultz (2008) também encontrou amostras de polpas de juçara comerciais abaixo dos índices mínimos de 8% de matéria seca conforme preconiza a legislação e ainda constatou que em grande parte das amostras de polpas comerciais os índices variavam de menores do que 8% à no máximo 11%, que “todas as amostras de açaí da agroindústria são classificados como açaí fino”.

5.1.2 Análise colorimétrica da matéria-prima

As coordenadas colorimétricas da matéria-prima (Fruta e polpa) são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Colorimetria da matéria-prima (MP)

MP	L*	a*	b*	C*	H°
Fruta (FEEt)	$19,31^{a} \pm 0,62$	$1,04^{a} \pm 0,10$	$-0,90^{a} \pm 0,02$	$1,38^{a} \pm 0,08$	$-40,80^{a} \pm 2,33$
Fruta (FEAq)	$18,84^{a} \pm 0,67$	$1,08^{a} \pm 0,13$	$-0,87^{a} \pm 0,03$	$1,39^{a} \pm 0,10$	$-39,29^{a} \pm 3,52$
Fruta (FLAq)	$18,90^{a} \pm 0,62$	$1,07^{a} \pm 0,06$	$-0,85^{a} \pm 0,06$	$1,37^{a} \pm 0,05$	$-38,37^{a} \pm 2,82$
Fruta (FLEt)	$19,70^{a} \pm 0,22$	$0,94^{a} \pm 0,10$	$-0,84^{a} \pm 0,03$	$1,27^{a} \pm 0,06$	$-41,95^{a} \pm 3,94$
Polpa (PEEt)	$7,30^{c} \pm 0,94$	$5,06^{d} \pm 0,37$	$-2,77^{b} \pm 0,46$	$5,78^{c} \pm 0,47$	$-28,60^{c} \pm 3,37$
Polpa (PEAq)	$4,78^{d} \pm 0,43$	$0,99^{a} \pm 0,21$	$-0,99^{a} \pm 0,01$	$1,41^{a} \pm 0,14$	$-45,79^{a} \pm 5,91$
Polpa (PLEt)	$7,30^{c} \pm 0,94$	$4,65^{c} \pm 0,58$	$-2,48^{b} \pm 0,10$	$5,48^{c} \pm 0,40$	$-28,32^{c} \pm 2,50$
Polpa (PLAq)	$9,80^{b} \pm 0,09$	$1,96^{b} \pm 0,02$	$-1,29^{c} \pm 0,01$	$2,35^{b} \pm 0,03$	$-33,24^{b} \pm 0,21$

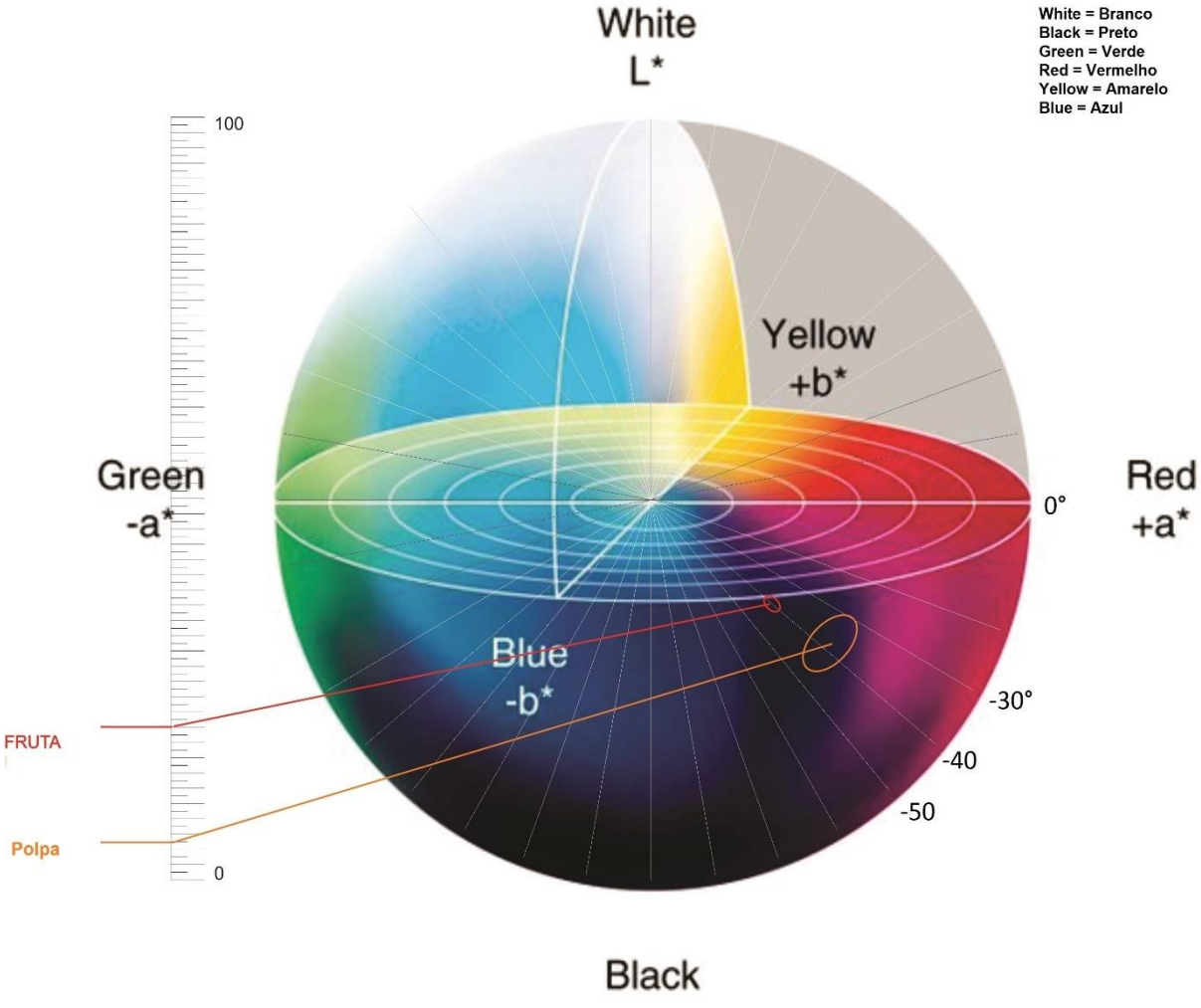
Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Como pode ser observado na Tabela 5 as amostras de fruta não diferiram entre si significativamente (*$p<0,05$*) em relação ao parâmetro L* (luminosidade) indo de 18,84 até 19,70. Borges (2013) destaca que em fases mais maduras dos frutos da juçara ocorre uma leve redução na luminosidade da cor, sendo que pode formar uma cutícula cerosa de proteção ao fruto deixando a superfície esbranquiçada, este fator diminui a luminosidade do fruto. Borges (2013) encontrou valores de 22,14 até 25,6 sendo esses valores um pouco mais luminosos dos que foram obtidos neste trabalho.

O parâmetro L* tem valores de 0 (Preto) a 100 (branco), onde pode-se deduzir que as frutas se localizam entre as cores roxa e roxa escura ou negro azulado, podendo ser melhor interpretado se observados os baixos valores de a* tendendo ao vermelho e os valores negativos de b* demonstrando tendência para o azul.

Para as polpas foram obtidos cores mais escuras indo do 4,78 até 9,80 para o parâmetro L* e para o parâmetro H° valores de -28,32° à -45,79° também demonstrando tendência para o preto azulado. Esses dados de cor são coerentes quando se observa a olho nu as polpas de juçara, onde são encontradas amostras que vão do roxo escuro e outras puxando levemente para a cor marrom com provável indício de oxidação. Cipriano (2011) encontra valores muito próximos para os parâmetros a*, b* e C* porém para valores de L* um pouco mais luminosas e para o ângulo de cor H° valores de -8,02° mais próximas da cor vermelha. A localização aproximada das cores das polpas e das frutas pode ser observada na Figura 13.

Figura 13 – Localização aproximada das amostras de fruta e polpa em função de L*b*C*H°



Fonte: Konica Minolta

5.1.3 Análise de compostos bioativos na matéria-prima

Os dados referentes as análises de antocianinas, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (AA) para a matéria-prima estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Análise de compostos bioativos da matéria-prima (MP)

MP	Antocianinas (mg/g)	Fenólicos Totais (mg/g)	AA IC_{50} (µg/mL)
Fruta (FEEt)	$1,437^{c} \pm 0,010$	$1,22^{b} \pm 0,06$	$81,72^{d} \pm 0,39$
Fruta (FEAq)	$0,865^{a} \pm 0,003$	$1,22^{b} \pm 0,10$	$72,67^{e} \pm 0,10$
Fruta (FLAq)	$0,899^{a} \pm 0,006$	$1,03^{a} \pm 0,07$	$101,82^{g} \pm 0,95$
Fruta (FLEt)	$1,275^{b} \pm 0,010$	$1,16^{a} \pm 0,08$	$79,68^{d} \pm 1.21$
Polpa (PEEt)	$2,737^{e} \pm 0,055$	$6,74^{c} \pm 0,15$	$41,31^{a} \pm 0,13$
Polpa (PEAq)	$2,156^{d} \pm 0,035$	$1,78^{b} \pm 0,30$	$83,41^{f} \pm 0,33$
Polpa (PLEt)	$5,209^{f} \pm 0,068$	$9,63^{d} \pm 0,17$	$57,47^{b} \pm 0,20$
Polpa (PLAq)	$5,013^{f} \pm 0,050$	$9,63^{d} \pm 0,16$	$64,92^{c} \pm 0,28$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Nas análises de antocianinas pode ser observado que alguns valores não diferiram significativamente entre si (*p<0,05*), caso das amostras Fruta FEAq e Fruta FLAq com resultados de 0,865 e 0,899 mg/g de antocianinas. Para as amostras de Polpa PLEt e PLAq também não diferiram significativamente com resultados de 5,209 e 5,013 mg/g, respectivamente. Borges (2013) obteve resultados bem próximos para as análises em frutas de juçara com resultados indo de 0,8347 até 8,899 mg/g de fruta. Ferreira (2013) encontrou valores abaixo dos encontrados neste trabalho para extração aquosa de 0,422 mg/g e para a extração etanólica de 0,415 mg/g de frutas de juçara, os dois tipos de extração não diferiram entre si e para a polpa foi encontrado 1,63 mg/g de polpa.

Para as análises de compostos fenólicos foram obtidos para as amostras de frutas teores de 1,03 até 1,22 mg/g equivalente de ácido gálico, sendo que as amostras fruta FEEt e Fruta FEAq não apresentaram diferenças significativas, bem como as amostras FLEt e FLAq entre si. Borges (2013) analisando extrato aquoso de juçara encontrou valores de 14,18 à 14,76 mg/g de compostos fenólicos totais na fruta, valores superiores ao encontrado para este trabalho.

Para as polpas foram encontrados valores de 1,78 até 9,63 mg/g equivalente de ácido gálico, sendo as amostra Polpa PLEt e Polpa PLAq sem diferença significativas entre si, mas diferentes das demais. Melo et al. (2015) encontrou valores de 11,07 mg/g de fenólicos para a polpa da juçara colhida na cidade de Maringá – PR, valores próximos aos obtidos para este trabalho.

Nas análises de atividades antioxidantes foram obtidos valores na ordem de 72,67 até 101,82 µg/mL para as frutas e de 41,31 até 83,41 µg/mL para as polpas comerciais da juçara. Borges (2013) encontra valores de 1,22 µmol/mL equivalente em Trolox, já Schultz (2008) encontra 13,7 µmol/mL equivalente em Trolox, ambos para analises em extratos aquoso de juçara. Os valores de atividade antioxidante são inversamente proporcionais aos valores de antocianinas e fenólicos totais, ou seja, quanto maiores os conteúdos destes composto, menores os valores da quantidade de antioxidante para reduzir em 50% a atividade do radical DPPH (IC_{50}).

5.2 Avaliação dos biocorantes

Os biocorantes foram obtidos por dois métodos de extração (Alcoólico e aquoso) e dois métodos de secagem (Estufa e liofilizador). A avaliação da qualidade dos biocorantes foram descritas a partir dos rendimento, análise colorimétrica, compostos bioativos, solubilidade e estabilidade.

5.2.1 Rendimento dos biocorantes

A Tabela 7 apresenta o rendimento do biocorante em extração aquosa.

Tabela 7 – Rendimento dos biocorantes extraídos em solução aquosa

Amostra	Rendimento (%)
FEAq	$3,50\%^{b} \pm 0,10$
FLAq	$5,50\%^{a} \pm 0,16$
PEAq	$5,70\%^{a} \pm 0,18$
PLAq	$2,90\%^{c} \pm 0,04$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Observando a Tabela 7 podemos ver que houve diferença no rendimento entre as frutas conforme o tipo de secagem utilizada, e entre as polpas também. Os melhores rendimentos foram significativamente semelhantes para a fruta liofilizada (FLAq) e polpa seca em estufa (PEAq).

Constant (2013) faz referência a quantidade de polpa existente nos frutos do açaí (*Euterpe Oleracea*) que fica muito próxima a quantidade obtida na juçara, que a quantidade é bem pequena quando se faz comparação com o teor de pigmento obtido na polpa, sendo que este será bem superior ao teor de pigmento encontrado no fruto inteiro. A polpa nos frutos de juçara foi quantificada por Borges (2013) que encontrou uma porcentagem de 25,67 à 36,69% de polpa, sendo um rendimento em massa de 256,6 à 369,9 g de polpa por kg de fruto maduro. Fazendo uma correlação de rendimento do pó corante com a quantidade de polpa obtida no fruto inteiro, a quantidade de 5,50% na amostra FLAq pode ser considerada um bom rendimento.

A variação de rendimento também pode ser observado com mudança de pH. Constant (2003) observou que para o solvente extrator composto de água/HCl em pH 2,00 obteve um rendimento de 8,485 mg/100g ficando esse rendimento inferior ao mesmo solvente em pH 3,00 que foi de 11,160 mg/100g de antocianinas extraídas.

A Tabela 8 apresenta o rendimento obtido com a extração em solvente etanol 70% e acetona em pH 2,00. Nesta extração não houve diferença de rendimento depois da secagem entre as polpas. Observou-se diferença de rendimento entre as frutas, onde a FEEt (fruta, secagem em estufa) apresentou rendimento superior a todas as amostras analisadas com esta extração. O rendimento obtido para esta amostra é muito próxima do obtido com solvente aquoso nas amostras FLAq e PEAq (Tabela 7).

Tabela 8 – Rendimento dos biocorantes extraídos em solução etanol/acetona

Amostra	Rendimento (%)
FEEt	$5,20\%^{b} \pm 0,16$
FLEt	$2,40\%^{a} \pm 0,14$
PEEt	$2,45\%^{a} \pm 0,05$
PLEt	$2,40\%^{a} \pm 0,03$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Comparando as extrações observa-se que a extração aquosa apresentou melhor rendimento.

Constant (2013) encontra teores maiores do rendimento das antocianinas com extração em etanol utilizando SO_2 em comparação com água acidificada e até mesmo para o etanol acidificado a pH 2,00 com HCl. Os menores índices de rendimento são para a extração em água acidificada. Como a extração do etanol em sistema de evaporação a vácuo é relativamente fácil e de baixo custo, Constant (2013) recomenda a extração com etanol e SO_2.

A secagem do biocorante de juçara foi realizada por dois métodos, liofilização com temperatura de operação de -50 °C e com estufa de circulação de ar forçado em temperatura fixa de 45 °C. Observando os resultados disposto nas Tabelas 7 e 8 podemos ver que na extração aquosa houve diferença entre os tipos de secagem, já na extração etanólica não houve diferença entre a liofilização. El-Bachá e Kim (2014) realizaram secagem da polpa de açaí (*Euterpe Oleracea*) por liofilização e atomização, obtendo rendimento de 8,1 a 8,3% para a secagem com liofilizador e de 1,3 a 4,2% para a secagem em atomizador, tendo sido relatado problemas de aderência à superfície do atomizador de quantidade significativa de polpa prejudicando assim o rendimento para este tipo de processo.

Passos (2011) realizou a secagem de extrato antociânico de juçara encapsulada com maltodextrina em liofilizador obtendo um teor de antocianinas de 14,34 mg/ml e acentua as vantagens da secagem em processo de liofilização por esta ser realizado a baixas temperaturas. Cita também que o processo por Spray dryer é uma metodologia bastante aplicada pela indústria no processo de secagem para a obtenção de corantes naturais, no entanto essa técnica pode apresentar limitações como perda de compostos voláteis, reações de oxidação e perdas de compostos bioativos como vitaminas e antioxidantes.

Figueiredo et al., (2008) realizou a secagem de extratos de açaí em estufa e liofilizador não detectando diferença significativa na obtenção e qualidade das antocianinas em relação a secagem em liofilizador. Na conclusão faz forte referência a variação de temperaturas que os extratos da fruta da juçara foram submetidos de -18 °C até 102 °C sem apresentarem alterações quantitativas ou qualitativas. A temperatura utilizada de 102 °C foi relativamente maior do que a utilizada neste trabalho de 45 °C, o tempo de secagem não foi citado no trabalho e também não foi citado quantificação de rendimento obtido.

5.2.2 Determinação de umidade no biocorante em pó

A determinação do teor de umidade para as amostras do biocorante está apresentada na Tabela 9.

Tabela 9 – Umidade do biocorante em pó após secagem.

Amostra de Corante	Umidade (%)
FEAq	$4,65^{b} \pm 0,81$
FLAq	$6,33^{ab} \pm 0,46$
FEEt	$8,17^{c} \pm 0,65$
FLEt	$6,97^{c} \pm 0,34$
PEEt	$6,09^{ab} \pm 0,57$
PLEt	$6,71^{ac} \pm 0,19$
PEAq	$2,45^{d} \pm 0,48$
PLAq	$5,93^{ab} \pm 0,47$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey (p>0,05). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05).

Como pode ser observar na Tabela 9 as amostras FLAq, PLEt, PLAq e PEEt, não diferiram significativamente entre si (*P<0,05*) sendo que das 4 amostras apenas uma (PEEt) foi seca em estufa. As amostras FEAq, FLAq, PLAq também não diferiram significativamente entre si mesmo sendo com sistema diferentes de secagem, liofilizador e estufa. A amostra que permaneceu com maior índice de umidade foi a FEEt com 8,17% de umidade e a amostra com o menor índice de umidade foi a PEAq, ambas as amostras foram secas em estufa. Em análise geral as amostras não apresentam diferenças significativas para os métodos de secagem em relação ao conteúdo de umidade.

Figueiredo et al (2008). encontrou para a secagem dos extratos antociânicos de juçara teores de umidade de 1,13% para a secagem em estufa utilizando temperaturas de 102 °C e para a secagem em liofilizador teores de 1,15% sem diferenças significativas entre um método e outro também, porém bem menores dos que os índices encontrados para este trabalho. El-Bachá e Kim (2014) encontraram umidades de 2,20 a 3,27% para a secagem da polpa de açaí em liofilizador e de 1,70 a 2,15% para a secagem de polpas de açaí em sistema de atomização, valores abaixo dos que foram encontrados para este trabalho. Para os tipos de extração (aquosa e

etanólica) utilizados houve diferença entre as secagem como pode ser observado para as amostras que teve como matéria-prima a fruta. Para as amostras que utilizaram a polpa como matéria-prima não houve diferenças significativas na extração em 3 amostras e somente a PEAq foi diferente com índice de 2,45% de umidade.

5.2.3 Análise de colorimetria no biocorante em pó

A análise de cor nas amostras do biocorante em pó obtidas com polpa (PEAq e PLAq) demonstraram valores para o parâmetro H° (ângulo da cor) de -35,13 até -41,77, demonstrando tendência da cor para o ângulo do vermelho. Já para as amostras obtidas com fruta (FEAq e FLAq) o ângulo ficou de -60, 19 até -60,23 demonstrando tendência para o azul escuro. Para a luminosidade L* os valores foram baixos para todas as amostras, porém pode ser observado que a amostra FLAq difere das demais e apresenta uma tendência maior para o preto. O fator da luminosidade L* já era esperados maiores tendências para a cor preta em função da concentração (Secagem) dos extratos.

Tabela 10 – Colorimetria dos biocorantes com extração aquosa.

Amostra	L*	a*	b*	C*	H°
FEAq	$5,48^{a} \pm 0,10$	$1,18^{a} \pm 0,13$	$-2,06^{a} \pm 0,07$	$2,37^{b} \pm 0,02$	$-60,23^{a} \pm 3,43$
FLAq	$3,90^{b} \pm 0,01$	$1,19^{a} \pm 0,04$	$-2,07^{a} \pm 0,08$	$2,39^{b} \pm 0,07$	$-60,19^{a} \pm 1,23$
PEAq	$4,61^{c} \pm 0,02$	$2,62^{b} \pm 0,11$	$-1,84^{ba} \pm 0,03$	$3,21^{c} \pm 0,07$	$-35,13^{b} \pm 1,53$
PLAq	$4,60^{c} \pm 0,04$	$2,53^{b} \pm 0,02$	$-2,26^{ca} \pm 0,03$	$3,39^{c} \pm 0,03$	$-41,77^{b} \pm 0,32$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Observando a Tabela 10 podemos ver que os parâmetros de cores L*, a*, C* e H° para as amostras FEAq, FLAq, diferem significativamente (*$p<0,05$*) das amostras PEAq e PLAq, sendo estas produzidas com a polpa como matéria-prima. Somente o índice b* teve semelhança entre as amostras provenientes de frutas e polpas. Quanto ao processo de secagem (Liofilizador e estufa) não se observa diferenças significativas no parâmetro de cor para os biocorantes com extração aquosa.

Para a extração etanólica (Tabela 11) não se observa diferenças nos parâmetros L* de luminosidade entre as amostras FEEt e PLEt que utilizaram fruta e a polpa como matéria-prima respectivamente.

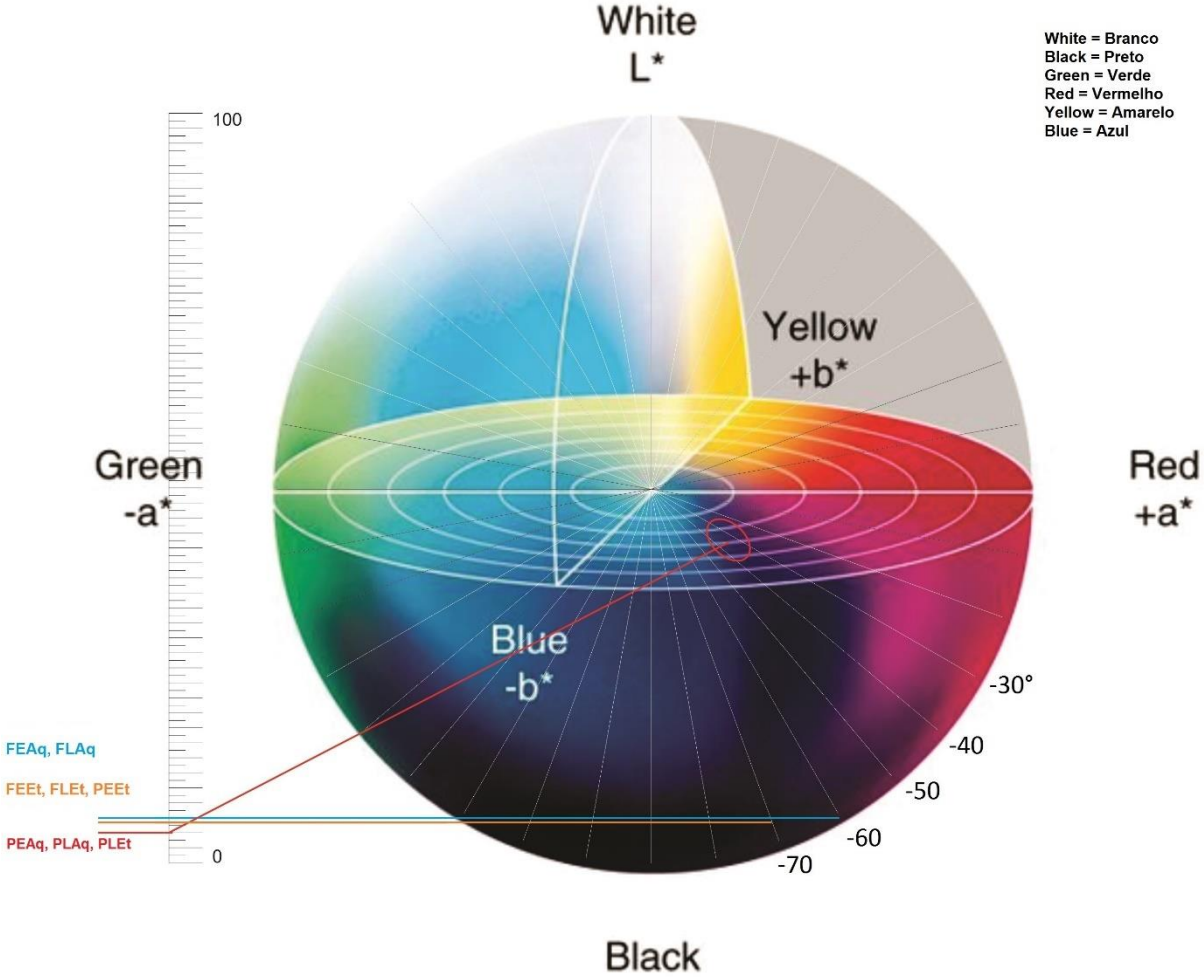
Tabela 11 – Colorimetria dos biocorantes com extração etanol/acetona.

Amostra	L*	a*	b*	C*	H°
FEEt	4,15^{a} ± 0,01	0,74^{a} ± 0,18	-1,94^{a} ± 0,11	2,08^{a} ± 0,05	-68,99^{a} ± 5,73
FLEt	3,72^{b} ± 0,01	1,08^{ba} ± 0,12	-2,43^{b} ± 0,03	2,65^{d} ± 0,07	-66,07^{a} ± 2,22
PEEt	5,15^{c} ± 0,02	0,68^{a} ± 0,20	-1,79^{a} ± 0,05	1,92^{a} ± 0,03	-69,16^{a} ± 6,00
PLEt	4,22^{a} ± 0,04	4,38^{c} ± 0,16	-2,60^{b} ± 0,06	5,09^{e} ± 0,10	-30,71^{b} ± 1,65

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey (p>0,05). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05).

A amostra PEEt ficou mais luminosa e a amostra FLEt mais escura com valor de L* = 2,72. Para os parâmetros a*, b*, C* e H° os valores entre as amostras FEEt e PEEt não diferiram significativamente entre si, ambas as amostras foram secas em estufa. A amostra PLEt apresenta diferenças significativas entre as demais amostras nos parâmetros a*, C* e H° demonstrando tendência mais para a cor vermelho no gráfico de Mansell (Figura 14).

Figura 14 – Localização aproximada das amostras do biocorante em função de L*b*C*H°



Fonte: Konica Minolta

A Figura 15 demonstra as amostras do biocorante disposta em placas de Petri, onde pode ser analisadas as cores pelo olhar humano. Apenas as amostras FLET e PLEt podem ser distinguidas como levemente mais claras que as demais. Essas duas amostras tem uma cor preta puxando para o roxo, as demais amostras percebemos como uma cor que vai de encontro ao cinza ou preto azulado.

Figura 15 – Amostras do biocorante em pó

Fonte: Próprio autor

Monteiro (2011) encontra baixos valores de a* e b* para a polpa de açaí seca em liofilizador porem com a luminosidade bem mais destacada indo de 35,79 até 45,16 indo da cor roxa em direção ao vermelho. Constant (2003) testa corantes líquidos concentrados de açaí e encontra valores de luminosidade L* de 64,79 e para o parâmetro b* de -8,93 com o ângulo H° negativo o que demonstra tendência para a cor localizada entre o eixo vermelho e azul.

5.2.4 Análise de compostos bioativos no biocorante

Neste tópico serão discutidos os compostos bioativos analisados para o pó do biocorante, dando ênfase para a possibilidade de degradação e conferir qual dos parâmetros estudados foram ou não responsáveis por determinada perda ou não dos compostos. Serão analisados antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

5.2.4.1 Análise de antocianinas totais

Os resultados dos valores obtidos para as antocianinas totais nas amostra de biocorante estão dispostas na Tabela 12.

Tabela 12 – Análise de antocianinas nos biocorantes

Amostra de biocorante	Antocianina (mg/g)
FEEt	$11,425^{f} \pm 0,038$
FLEt	$16,629^{h} \pm 0,045$
FEAq	$12,691^{g} \pm 0,027$
FLAq	$10,782^{e} \pm 0,029$
PEEt	$9,468^{d} \pm 0,020$
PLEt	$7,772^{b} \pm 0,119$
PEAq	$2,704^{a} \pm 0,019$
PLAq	$9,060^{c} \pm 0,020$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey (p>0,05). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05).

Observando a Tabela 12 pode ser constatado que todas as amostras diferiram significativamente (*p<0,05*), sendo que os maiores índices de antocianinas foram para os biocorantes extraídos com a fruta in natura e diferem entre si para a forma de extração (etanol e água) e para a secagem (liofilizador e estufa). O melhor índice de antocianinas ficou com a amostra FLEt de 16,629 mg/g que foi obtida com fruta, extração em etanol e seco em liofilizador. As polpas apresentaram menores índices, sendo que o menor com a amostra PEAq de 2,704 mg/g obtida com polpa, extração aquosa e secagem em estufa. Constant (2013) faz a consideração de rendimento antociânico entre a polpa comercial e a fruta *in natura* de açaí, sendo que para os extratos das frutas purificados de antocianinas é encontrado valores de 1,57 e 2,16 mg/g, obtendo um rendimento na ordem de 9 vezes em relação à matéria-prima. No presente trabalho os extratos para a produção do corante não foram purificados.

Passos (2011) realiza extração com frutas *in natura* de juçara e elabora um corante em pó também sem purificação encontrando valores de 14,34 mg/g, bastante próximos aos encontrados neste trabalho. O aumento de antocianinas em relação à matéria-prima foi em média de 12 vezes para as frutas e de 2 vezes para as amostras de biocorante obtida com as polpas comerciais.

Foram realizados planejamento fatorial completo, com 3 fatores avaliados em dois níveis (fatorial 2^3), Os fatores avaliados foram o tipo de matéria-prima (MP), o tipo de solvente utilizado na extração do biocorante e o método de secagem das amostras. A Tabela 13 apresenta a matriz de planejamento 2^3 e as respostas (Antocianinas) obtidas para cada amostra do biocorante. Pode-se observar que os maiores valores de antocianinas são nas amostras FLEt, FEAq, FEEt, FLAq, ou seja, par as amostras obtidas com a fruta como matéria-prima.

Tabela 13 - Matriz do planejamento Fatorial 2^3 com sua forma codificada para as antocianinas.

Experimento	Amostra	MP	Solvente	Secagem	Antocianinas
1	PEAq	-1	-1	-1	2,704
2	FEAq	+1	-1	-1	12,691
3	PEEt	-1	+1	-1	9,468
4	FEEt	+1	+1	-1	11,425
5	PLAq	-1	-1	+1	9,060
6	FLAq	+1	-1	+1	10,782
7	PLEt	-1	+1	+1	7,772
8	FLEt	+1	+1	+1	16,629

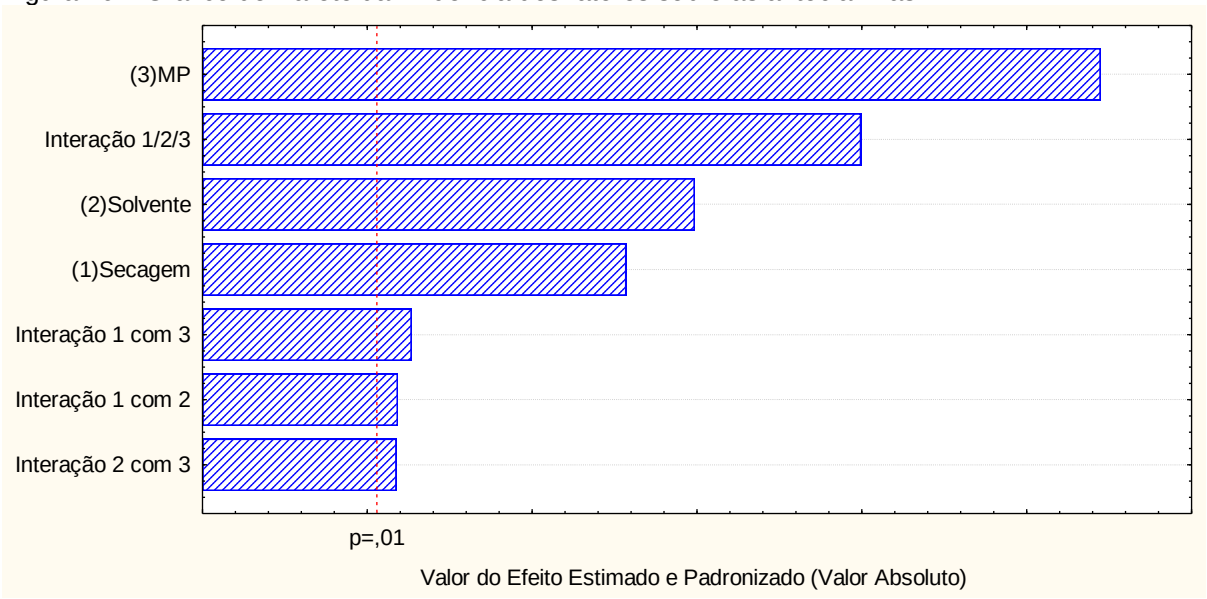
A Tabela 14 apresenta os efeitos dos fatores e suas interações, sendo que os valores em negrito indicam que o fator ou a interação foi significativa para um nível de confiança de 99% ($p \leq 0,01$). Os fatores analisados são matéria-prima, solvente e secagem. O efeito indica o quanto cada fator influencia na resposta antocianina nas amostras do biocorante

Tabela 14 – Valores dos efeitos dos fatores sobre as antocianinas dos biocorantes.

Fatores	Efeito	Desvio Padrão	Nível P	Limite inferior 99%	Limite Superior 99%
Média/Interação	**10,06635**	**0,012658**	**0,00000000**	**10,02938**	**10,10332**
(1) Secagem	**1,98881**	**0,025317**	**0,00000000**	**1,91487**	**2,06276**
(2) Solvente	**2,51410**	**0,025317**	**0,00000000**	**2,44016**	**2,58804**
(3) Matéria-prima	**5,63075**	**0,025317**	**0,00000000**	**5,55681**	**5,70470**
Interação 1 com 2	**-0,23470**	**0,025317**	**0,00000007**	**-0,30864**	**-0,16076**
Interação 1 com 3	**-0,34095**	**0,025317**	**0,00000000**	**-0,41489**	**-0,26700**
Interação 2 com 3	**-0,22379**	**0,025317**	**0,00000014**	**-0,29773**	**-0,14985**
Interação 1/2/3	**3,79134**	**0,025317**	**0,00000000**	**3,71739**	**3,86528**

Analisando a Tabela 14 pode-se observar que todos os fatores tiveram influência sobre os resultados de antocianinas em um nível de confiança de 99%. A Figura 16 apresenta o diagrama de Pareto, representando de forma mais ilustrativa os efeitos dos fatores, suas interações e suas significâncias.

Figura 16 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre as antocianinas.

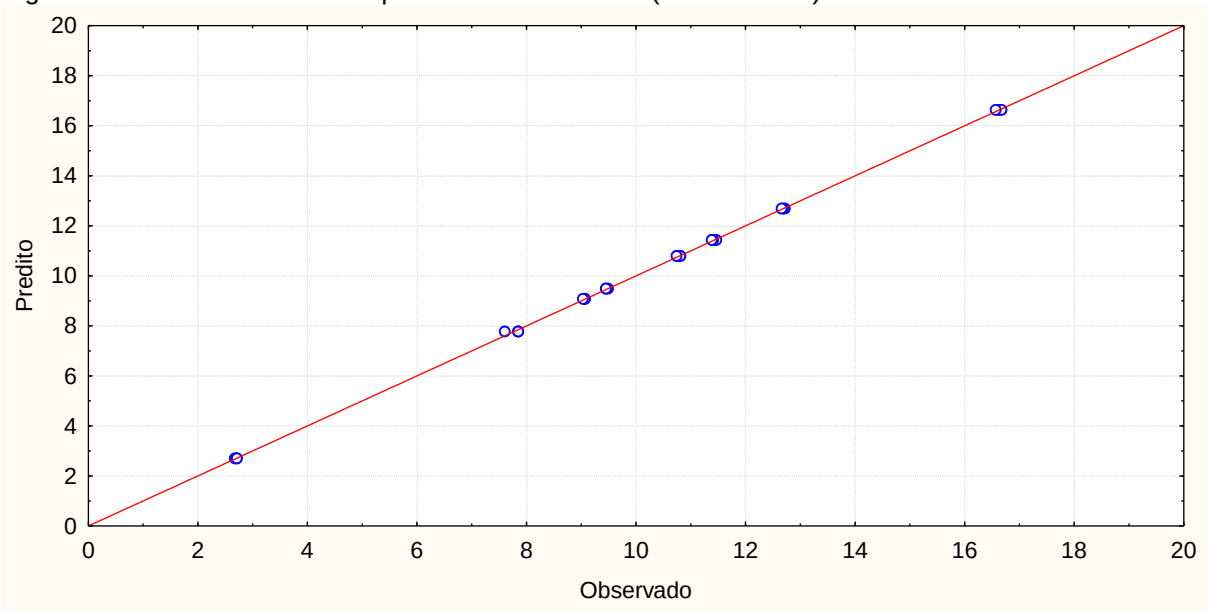


Analisando a Figura 16 pode-se concluir que a matéria-prima é o fator que mais influência nos resultados para a quantidade de antocianinas obtidas no biocorante.

Analisando a Tabela 12 pode se confirmar os dados obtidos dentro do modelo estatístico de análise, sendo que das 4 amostras com os melhores resultados em quantidade de antocianinas, as 4 foram obtidas com a fruta como matéria-prima. Duas amostras foram secas em estufas (FEEt, FEAq), sendo que cada uma delas foi extraída com diferentes solventes, etanol e água respectivamente. Duas foram obtidas com a secagem de liofilizador (FLAq, FLEt), sendo que cada uma também foi obtida com diferentes solventes, água e etanol respectivamente.

A figura 17 apresenta os valores preditos pelo modelo e os valores observados experimentalmente para a quantificação de antocianinas das amostras do biocorante. Pode-se observar uma boa linearidade entre os valores observados experimentalmente e os valores preditos pelo modelo empírico. Foi obtido um coeficiente de correlação (R^2) de 0,999 considerado um bom coeficiente para o modelo escolhido.

Figura 17 – Gráfico dos valores preditos e observados (Antocianinas)



5.2.4.2 Análise de fenólicos totais

Os resultados obtidos para os valores de fenólicos na matéria-prima e nas amostras de biocorante estão dispostos na Tabela 15.

Tabela 15 – Análise de fenólicos totais nos biocorantes

Amostra	Fenólicos (mg/g)
FEEt	$47,27^{b} \pm 0,68$
FLEt	$48,08^{b} \pm 0,77$
FEAq	$39,56^{f} \pm 2,63$
FLAq	$28,65^{a} \pm 0,51$
PEEt	$33,61^{e} \pm 0,66$
PLEt	$26,22^{a} \pm 0,58$
PEAq	$6,220^{c} \pm 1,81$
PLAq	$20,37^{d} \pm 0,88$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Analisando a Tabela 15 pode-se observar que para as amostras de biocorante extraídas com a fruta como matéria-prima e etanol (FEEt, FLEt) foram

estatisticamente iguais (*P<0,05*) mesmo com o processo de secagem diferente (Estufa e liofilizador). Para as amostras que foram obtidas com a fruta e extração aquosa (FEAq, FLAq) os resultados foram diferentes entre si e semelhantes com a amostra PLEt que foi obtida com a polpa e extração etanólica. As demais amostras obtiveram resultados estatisticamente diferentes. O maiores índices de compostos fenólicos encontrados são de 39,56 mg/g até 48,08 mg/g, esse valor corresponde em média de 30 vezes mais compostos fenólicos do que nas amostras da matéria-prima, fator este explicado através da concentração dos composto bioativos. Rufino et al (2010), encontra para a juçara valores de 56,72 mg/g de fenólicos e Schultz (2008) valores de 39,6 mg/g também para o extrato concentrado da fruta.

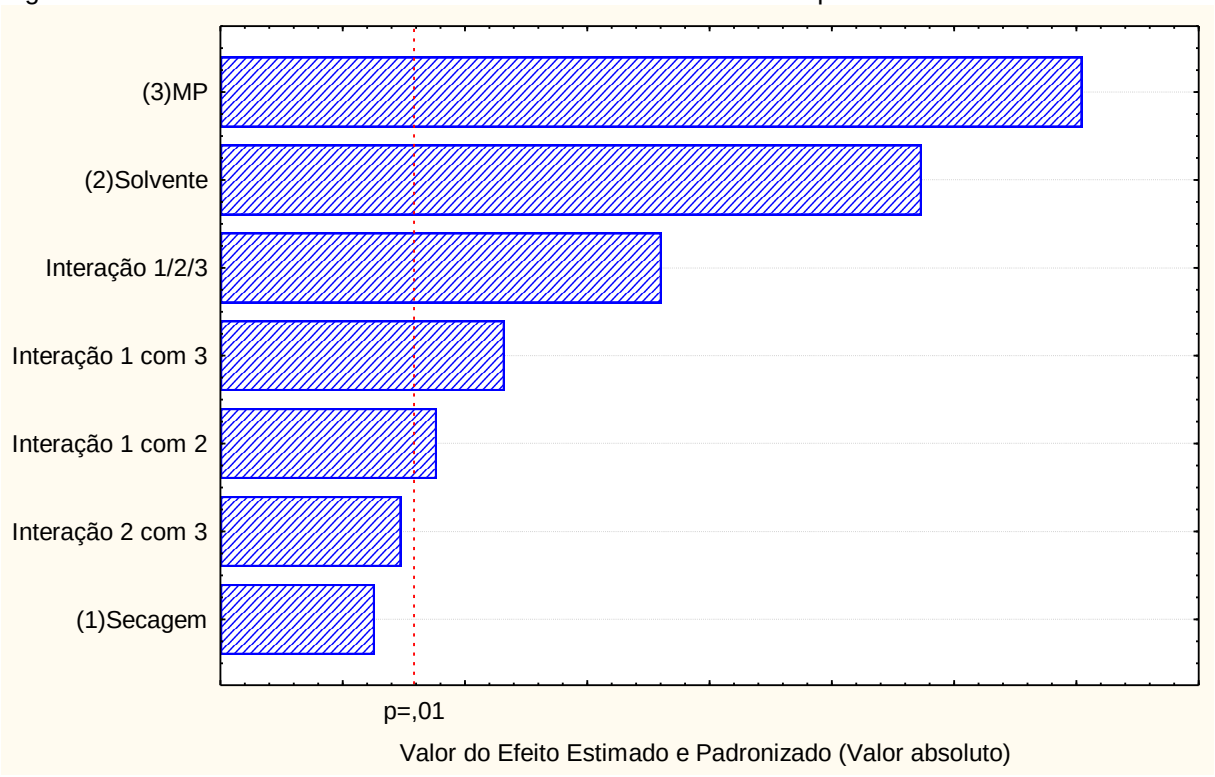
Na Tabela 16 pode ser observado os fatores que mais contribuíram para a concentração dos compostos fenólicos (em negrito) nas amostras do biocorante, sendo a qualidade da matéria-prima o fator mais relevante seguida da forma de extração. A secagem não teve influência sobre os compostos fenólicos dentro de um nível de confiança de 99%.

Tabela 16 - Valores dos efeitos dos fatores sobre os compostos fenólicos dos biocorantes.

Fatores	Efeito	Desvio Padrão	Nível P	Limite inferior 99%	Limite Superior 99%
Média/Interação	**31,24940**	**0,318852**	**0,00000000**	**30,31810**	**32,18069**
(1) Secagem	-0,83767	0,637705	0,20751677	-2,70026	1,02493
(2) Solvente	**15,09498**	**0,637705**	**0,00000000**	**13,23239**	**16,95758**
(3) Matéria-prima	**19,28258**	**0,637705**	**0,00000000**	**17,41998**	**21,14517**
Interação 1 com 2	**-2,45476**	**0,637705**	**0,00141721**	**-4,31735**	**-0,59216**
Interação 1 com 3	**-4,21916**	**0,637705**	**0,00000593**	**-6,08176**	**-2,35657**
Interação 2 com 3	-1,52435	0,637705	0,02947833	-3,38695	0,33824
Interação 1/2/3	**8,31509**	**0,637705**	**0,00000000**	**6,45250**	**10,17769**

Analisando o gráfico de Pareto (Figura 18) pode-se observar que a matéria-prima é o fator de maior influência nos resultados para a quantidade de compostos fenólicos obtidos no biocorante seguido do tipo de solvente e da interação entre os três fatores, confirmando que somente o processo de secagem não contribuiu para a quantidade de compostos fenólicos presente na amostra dos biocorantes.

Figura 18 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre os compostos fenólicos.

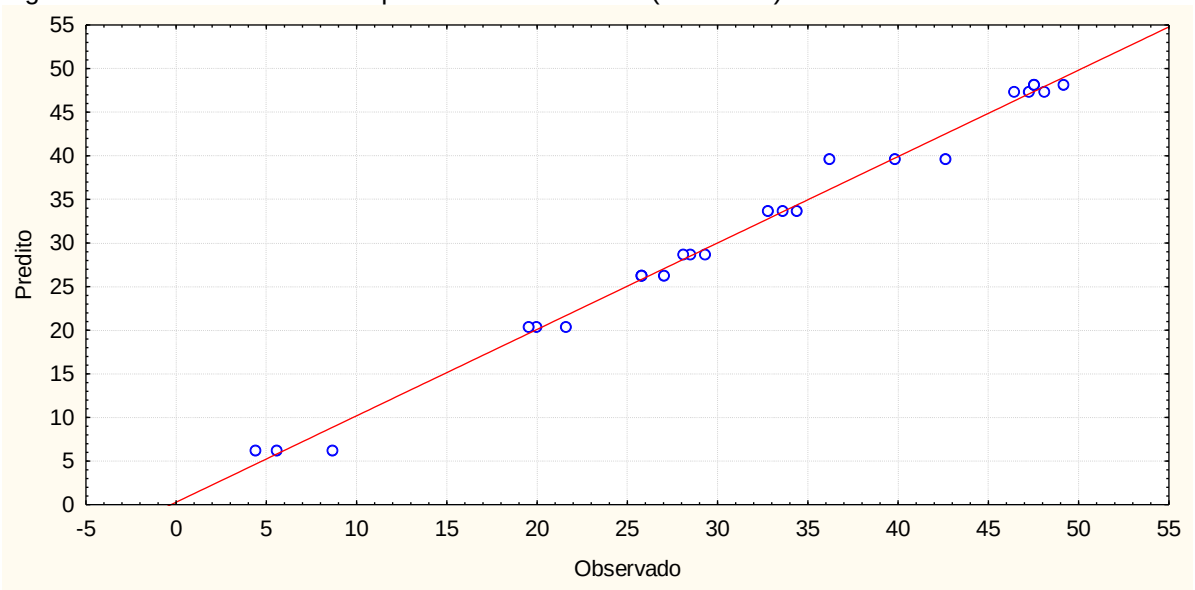


As interações entre os fatores secagem/solvente e secagem/matéria-prima tiveram influência no nível de 99% de confiança.

Analisando a Tabela 15 pode ser observados os resultados obtidos dentro do modelo estatístico de análise, sendo que das 4 amostras com os melhores resultados em quantidade de fenólicos totais, as 4 foram obtidas com a fruta como matéria-prima. Os dois melhores resultados foram extraídos com solução etanólica como solvente (FEEt, FLEt), seguidos do terceiro e quarto melhores resultados para as amostras que utilizaram solução aquosa como solvente (FEAq, FLAq). Cada uma delas foi submetida a processos de secagem diferentes, Duas foram obtidas com a secagem de liofilizador (FLAq, FLEt) e duas com secagem em estufa (FEEt, FEAq), confirmando que o fator secagem não teve influência sobre a quantificação dos compostos fenólicos.

A figura 19 apresenta os valores preditos pelo modelo e os valores observados experimentalmente para a quantificação de compostos fenólicos nas amostras do biocorante. Pode-se observar uma boa linearidade entre os valores observados experimentalmente e os valores preditos pelo modelo empírico. Foi obtido um coeficiente de correlação (R^2) de 0,995 considerado um bom coeficiente para o modelo escolhido.

Figura 19 – Gráfico dos valores preditos e observados (Fenólicos)



5.2.4.3 Análise de Atividade Antioxidante (AA)

Os resultados para as análises da atividade antioxidante nas amostras de biocorante são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Análise de Atividade Antioxidante (AA) nos biocorantes

Amostra de biocorante	AA (µg/mL)IC_{50}
FEEt	$11,30^{a} \pm 0,10$
FLEt	$10,55^{a} \pm 0,06$
FEAq	$9,82^{a} \pm 0,09$
FLAq	$15,50^{bc} \pm 0,08$
PEEt	$12,37^{ab} \pm 0,03$
PLEt	$16,46^{c} \pm 0,09$
PEAq	$60,92^{e} \pm 2,92$
PLAq	$23,07^{d} \pm 0,11$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Analisando a Tabela 17 foram encontrados valores de 9,82 até 15,50 µg/mL para as amostras de biocorantes obtidas com a fruta como matéria-prima e valores de 12,37 à 60,92 µg/mL para as amostras obtidas através da polpa comercial da fruta. No geral as amostras obtidas com etanol como solvente obtiveram os melhores

resultados tanto nas amostras obtidas com fruta quanto para as obtidas com polpa, com exceção da amostra FEAq que foi obtida com a fruta e extração aquosa que obteve o melhor valor (9,82 µg/mL). Quanto aos métodos de secagem não foi observado variação significativa nos resultados da atividade antioxidantes do biocorantes.

Rufino et al. (2010) encontrou para os extratos secos de juçara 65 g/g de DPPH sendo esta uma excelente atividade antioxidante para a juçara. Melo et al. (2015) encontra valores de 19,40 µg/mL de IC_{50} no extrato seco da polpa da fruta da juçara, valores próximos aos encontrados neste trabalho. Fraga et al. (2014) encontra 26,66 µg/mL de IC_{50} para a juçara do Litoral Norte do RS. Já Peron (2015) encontra 88,00 µg/mL nos extratos do corante de juçara.

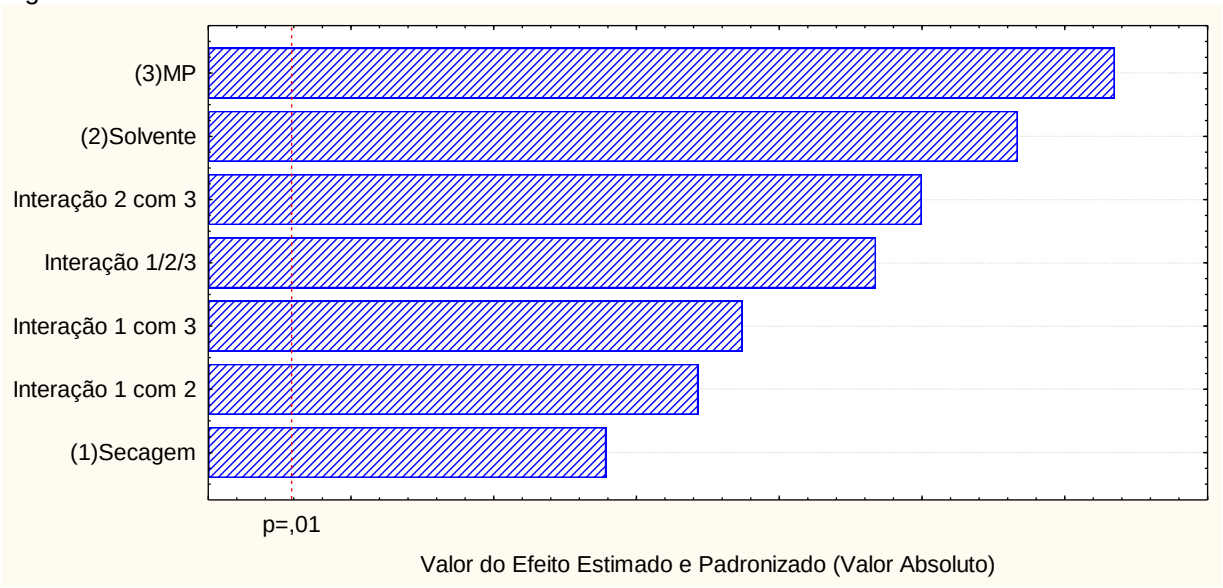
Na Tabela 18 pode ser observado os fatores que mais contribuíram para a atividade antioxidante (AA) nas amostras do biocorante, sendo a qualidade da matéria o fator mais relevante seguida da forma de extração (solventes) .

Tabela 18 - Valores dos efeitos dos fatores sobre a AA dos biocorantes.

Fatores	Efeito	Desvio Padrão	Nível P	Limite inferior 99%	Limite Superior 99%
Média/Interação	**19,9979**	**0,258552**	**0,00000000**	**19,2427**	**20,7530**
(1) Secagem	**-7,2083**	**0,517103**	**0,00000000**	**-8,7186**	**-5,6980**
(2) Solvente	**-14,6603**	**0,517103**	**0,00000000**	**-16,1707**	**-13,1500**
(3) Matéria-prima	**-16,4161**	**0,517103**	**0,00000000**	**-17,9264**	**-14,9057**
Interação 1 com 2	**8,8746**	**0,517103**	**0,00000000**	**7,3642**	**10,3849**
Interação 1 com 3	**-9,6749**	**0,517103**	**0,00000000**	**8,1646**	**11,1853**
Interação 2 com 3	**12,9213**	**0,517103**	**0,00000000**	**11,4110**	**14,4317**
Interação 1/2/3	**-12,0908**	**0,517103**	**0,00000000**	**-13,6012**	**-10,5805**

Um dado que chama a atenção são os valores negativos encontrados para os fatores analisados que faz uma completa correlação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH, sendo que a AA é inversamente proporcional as concentrações de extrato. Quanto menor é a concentração da amostra no IC_{50} (capacidade de reduzir em 50% o radical DPPH) maior é o poder de ação antioxidante, o contrário também é verdadeiro, quanto maior é a quantidade de amostra utilizada, menor é o poder de ação antioxidante.

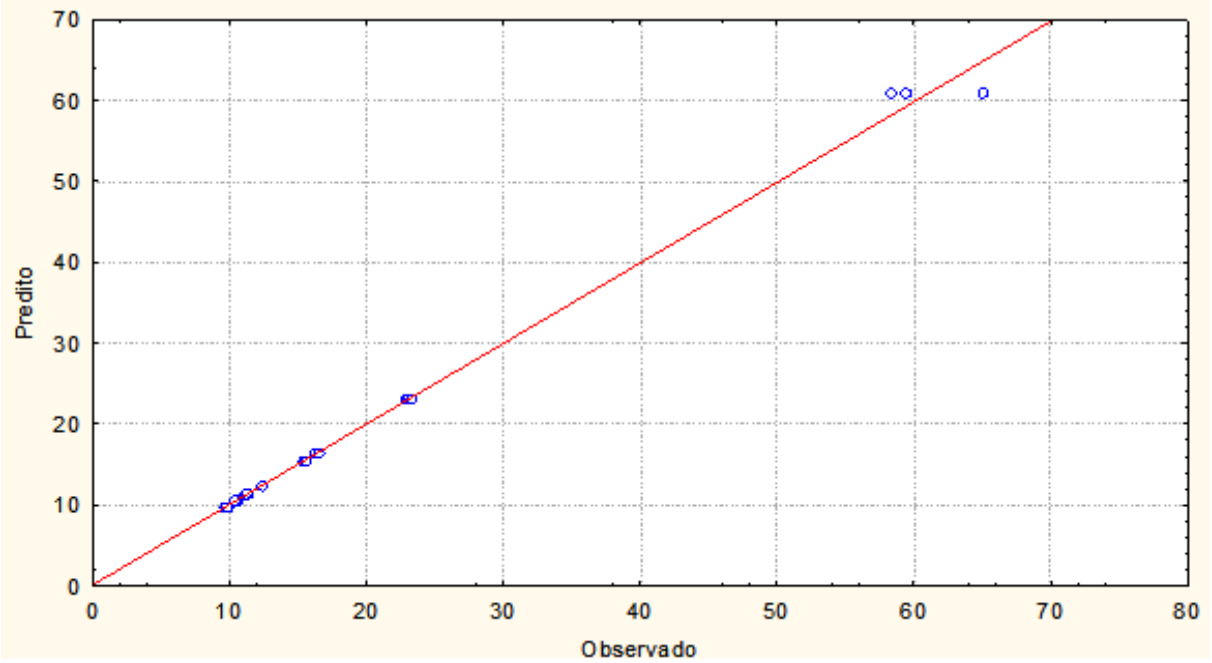
Figura 20 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre a AA dos biocorantes.



Analisando a Figura 20 pode ser melhor observado os resultados da interações entre os fatores. Nesta análise pode ser considerado que todos os fatores tiveram influência sobre os resultados da atividade antioxidante dentro de um nível de confiança de 99%, inclusive as interações entre os fatores de matéria-prima, solvente e secagem.

A figura 21 apresenta os valores preditos pelo modelo e os valores observados experimentalmente para a quantificação da atividade antioxidante nas amostras do biocorante.

Figura 21 – Gráfico dos valores preditos e observados (Atividade Antioxidante).



Pode-se observar uma boa linearidade entre os valores observados experimentalmente e os valores preditos pelo modelo empírico. Foi obtido um coeficiente de correlação (R^2) de 0,998 considerado um bom coeficiente para o modelo escolhido.

A atividade antioxidante está correlacionada aos resultados de quantidade de antocianinas e fenólicos totais. Na Tabela 17 pode ser observado que os melhores resultados também foram obtidas para as amostras de biocorantes que utilizaram a fruta como matéria-prima (FEEt, FLEt, FEAq, FLAq), sendo que somente uma amostra produzida com a polpa comercial apresentou um bom resultado (PEEt). Nota-se que das amostras com estes resultados os processos de extração e secagem foram distribuídos igualmente, confirmando a correlação de todos os fatores.

5.2.5 Solubilidade do biocorante

O estudo da solubilidade para as amostras do biocorante está disposta na Tabela 19.

Tabela 19 – Solubilidade dos biocorantes com extração aquosa.

Amostra	Solubilidade (%)
FEEt	$32,31^{b} \pm 1,06$
FLEt	$75,63^{c} \pm 0,76$
FEAq	$63,50^{a} \pm 0,99$
FLAq	$77,71^{c} \pm 2,61$
PEEt	$55,73^{d} \pm 1,03$
PLEt	$65,40^{a} \pm 0,93$
PEAq	$32,84^{b} \pm 1,45$
PLAq	$62,80^{a} \pm 2,51$

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna são consideradas estatisticamente iguais pelo teste de Tuckey ($p>0,05$). Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna são consideradas estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Observando a Tabela 19 para as amostras FEAq, PLEt e PLAq pode-se concluir que não houve diferença significativa (*p<0,05*) mesmo as amostras tendo passado por processo de secagem diferenciado, estufa e liofilizador respectivamente. As amostras também tiveram origem e extração diferentes como frutas aquosa e polpa

etanólica e aquosa respectivamente. As amostras com os maiores índices de solubilidade (FLEt e FLAq) não apresentaram diferenças significativas e ambas foram submetidas ao processo de liofilização, extraídas da fruta em solução etanólica e aquosa respectivamente.

El-Bachá e Kim, (2014) citam que algumas das vantagens da secagem em liofilizador é a alta reidratação dos produtos pois forma-se poros durante a sublimação da água. Monteiro (2011) ao liofilizar amostras de polpa de açaí atinge uma molhabilidade de 0,12 a 0,13 g/s considerando como bom os resultados obtidos para a concentração de 5 mg por ml, esses valores equivalem a cerca de 88% a 87% de solubilidade, valores maiores do que os obtidos para as amostras de biocorante neste trabalho. As amostras FEEt e PEAq tiveram os menores índices de solubilidade e não diferiram significamente entre si.

Leal (2011, p 26) faz uma forte referência quanto a dificuldade de se encontrar dados comparativos para os estudos com solubilidade de corantes, mesmo tendo muitos estudos de extração, separação e produção: “Apesar de ter sido realizado muito trabalho com corantes, é surpreendente que uma propriedade termodinâmica fundamental como a solubilidade tenha sido tão pouco estudada.”, em seus estudos de solubilidade para corantes azo. Rodrigues e Araújo (2013) testam corantes de açaí para realizar tingimento de tecidos conseguindo resultados satisfatórios para concentrações de 30 g/L com temperaturas de 60 e 80 °C e utilizando como mordente sulfato de ferro, fazendo a recomendação do produto para a indústria têxtil, a propriedade tingimento está diretamente correlacionada com a solubilidade do produto, pois um produto com pouca solubilidade não terá capacidade de tingimento.

A tabela 20 apresenta os efeitos dos fatores na solubilidade dos biocorantes.

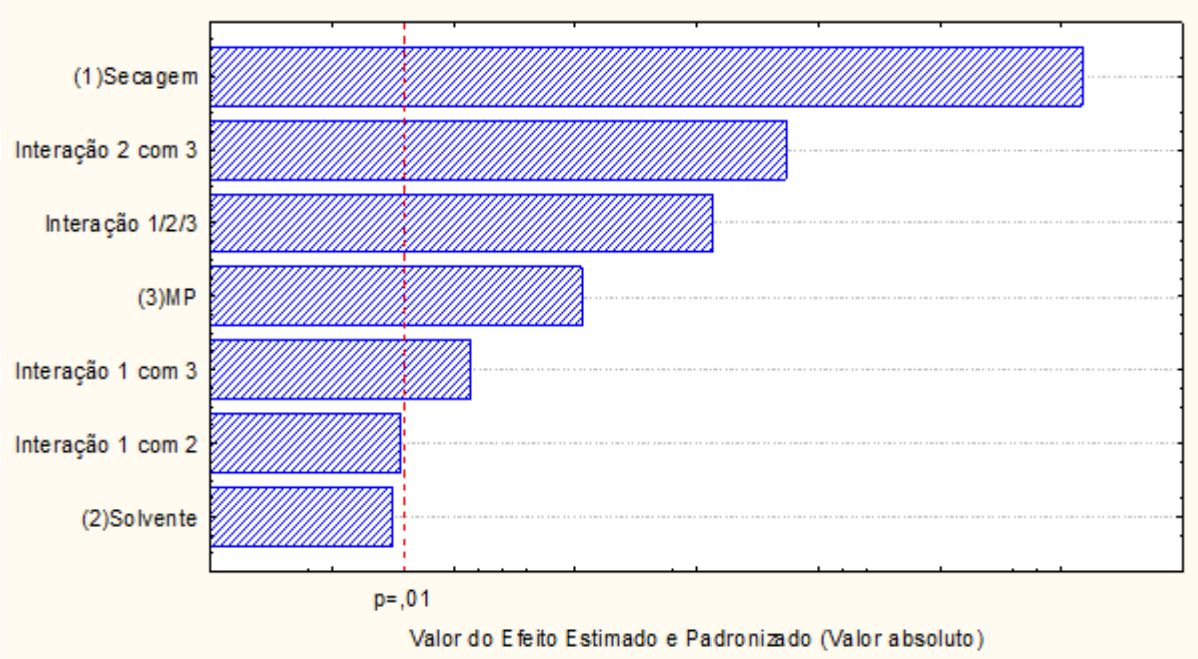
Tabela 20 - Valores dos efeitos dos fatores sobre a solubilidade dos biocorantes

Fatores	Efeito	Desvio Padrão	Nível P	Limite inferior 99%	Limite Superior 99%
Média/Interação	**0,582408**	**0,003936**	**0,00000000**	**0,570914**	**0,593903**
(1) Secagem	**0,242917**	**0,007871**	**0,00000000**	**0,219927**	**0,265906**
(2) Solvente	-0,19450	0,007871	0,02500896	-0,042439	0,003539
(3) Matéria-prima	**0,080967**	**0,007871**	**0,00000002**	**0,057977**	**0,103956**
Interação 1 com 2	0,022017	0,007871	0,01291610	-0,000973	0,045006
Interação 1 com 3	**0,044767**	**0,007871**	**0,00003365**	**0,021777**	**0,067756**
Interação 2 com 3	**-0,146867**	**0,007871**	**0,00000000**	**-0,169856**	**-0,123877**
Interação 1/2/3	**0,123500**	**0,007871**	**0,00000000**	**-0,100511**	**0,146489**

Na Tabela 20 pode-se observar que o somente o solvente não teve influência na solubilidade do corante e que a secagem é o fator de maior relevância. As interações entre secagem e matéria-prima (1-3), solvente com matéria-prima (2-3), bem como a interação entre os três fatores foram relevantes no nível de 99% de confiança estabelecido com a observação dos valores de p menores que 0,01 (Em negrito).

Essas interações podem ser observadas de forma mais contundente através do gráfico de Pareto, Figura 22.

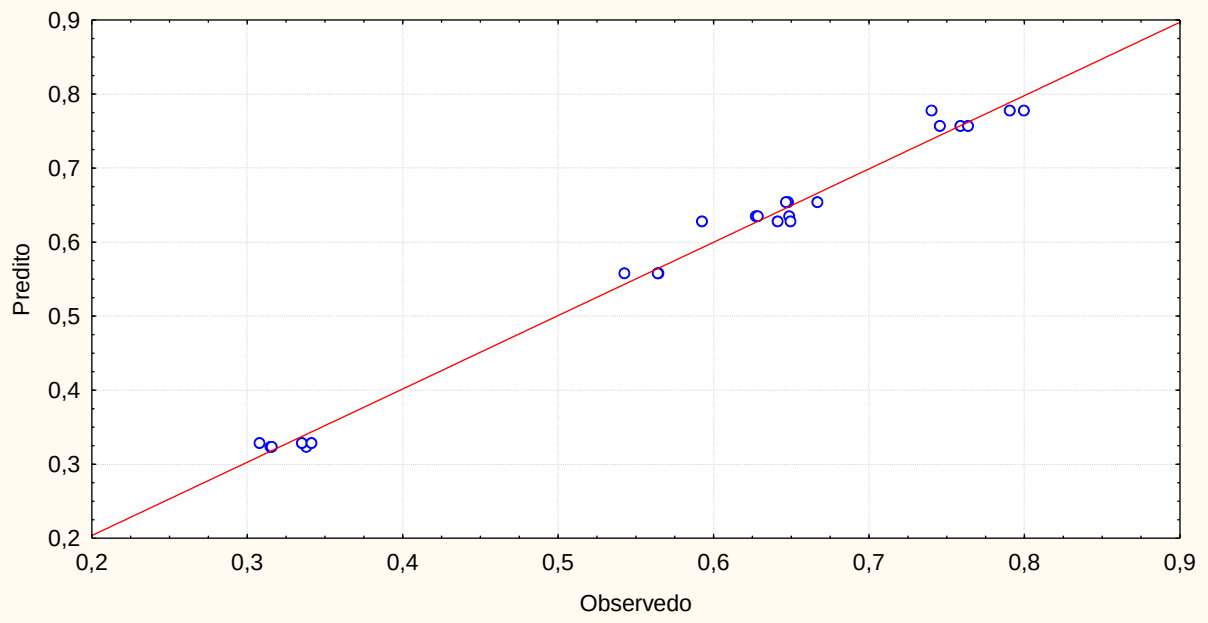
Figura 22 – Gráfico de Pareto da influência dos fatores sobre a Solubilidade dos biocorantes



A Figura 22 demonstra que o fator secagem foi o mais significativo para a solubilidade do biocorante, e a matéria-prima também apresentou significância, bem como a interação entre os três fatores.

A figura 23 apresenta os valores preditos pelo modelo e os valores observados experimentalmente para os valores de solubilidade das amostras do biocorante. Pode-se observar uma boa linearidade entre os valores observados experimentalmente e os valores preditos pelo modelo empírico. Foi obtido um coeficiente de correlação (R^2) de 0,995 considerado um bom coeficiente para o modelo escolhido.

Figura 23 – Gráfico dos valores preditos e observados (solubilidade).



Das 4 amostras com os melhores índices de solubilidade 3 foram submetidas ao processo de secagem por liofilização, (FLAq, FLEt, PLEt) e apenas uma foi submetida ao processo de secagem por estufa (FEAq). Das quatro amostras 3 foram extraídas da fruta in natura (FEAq, FLAq, FLEt) e apenas uma foi da polpa (PLEt). Das 4 amostras analisadas 2 amostras foram extraídas com solvente aquoso (FEAq, FLAq) e duas foram com solvente etanol (FLEt, PLEt), confirmando que a secagem e a matéria-prima foram os fatores que mais influenciaram na solubilidade.

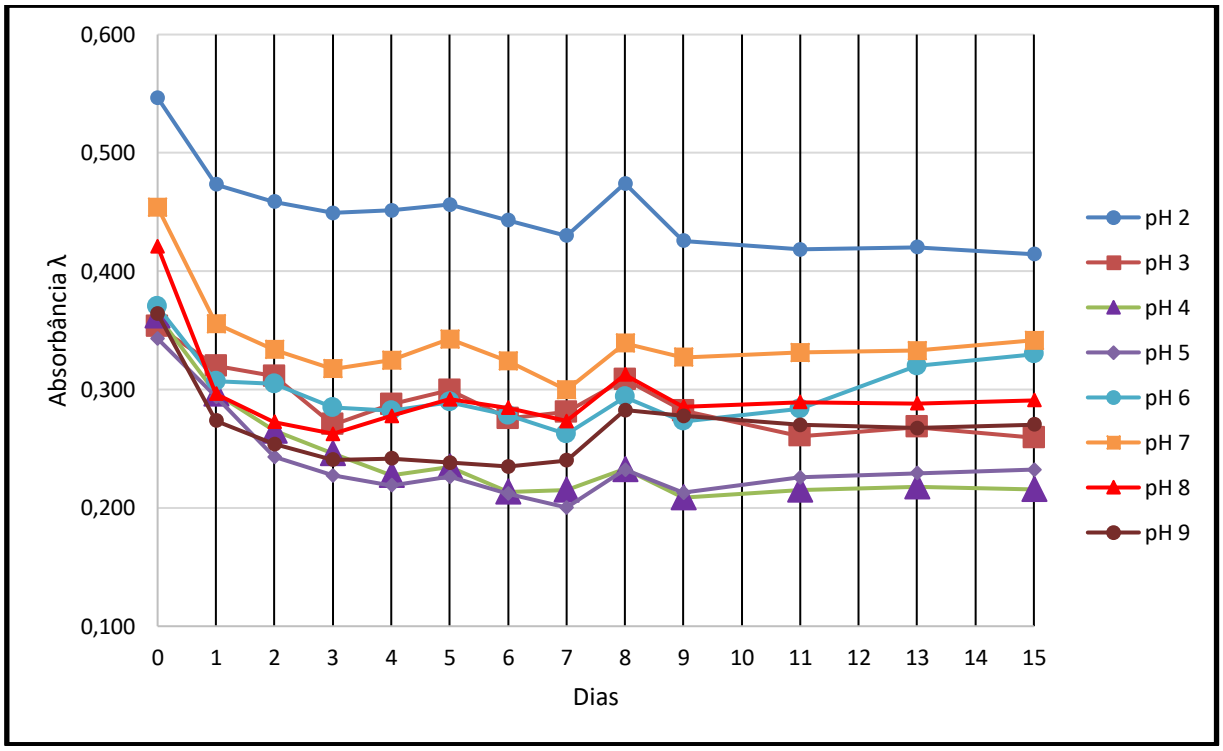
5.2.6 Estabilidade do biocorante

A estabilidade dos biocorantes foram observadas separadamente para cada amostra entre pH 2,00 até 9,00 no período de 15 dias. Os resultados apresentaram comportamento semelhantes com destaque para a queda na absorbância no primeiro dia. Porém houve variáveis observadas separadamente para cada amostra.

A amostra PEAq (Figura 24) apresentou comportamento decrescente e linear até o dia 7 para todas as faixas de pH, com queda acentuada da absorbância no primeiro dia. A leitura das absorbâncias apresentaram um aumento no dia 8 em todas as faixas de pHs, este comportamento pode ser considerado não convencional, pois o que se espera é que a queda da absorbância continue. No dia 9 a absorbância voltou a apresentar decréscimo, ainda no pH 6,00 a amostra PEAq continuou apresentando

comportamento anormal nos dias 13 e 15 com o aumento da absorbância. Este comportamento não linear da amostra pode estar relacionado a baixa solubilidade do biocorante, ou ainda com o baixo índice de umidade do biocorante podendo levar um período maior para se dissolver nas soluções tampão ou até mesmo a erros experimentais.

Figura 24 – Absorbância do biocorante PEAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH

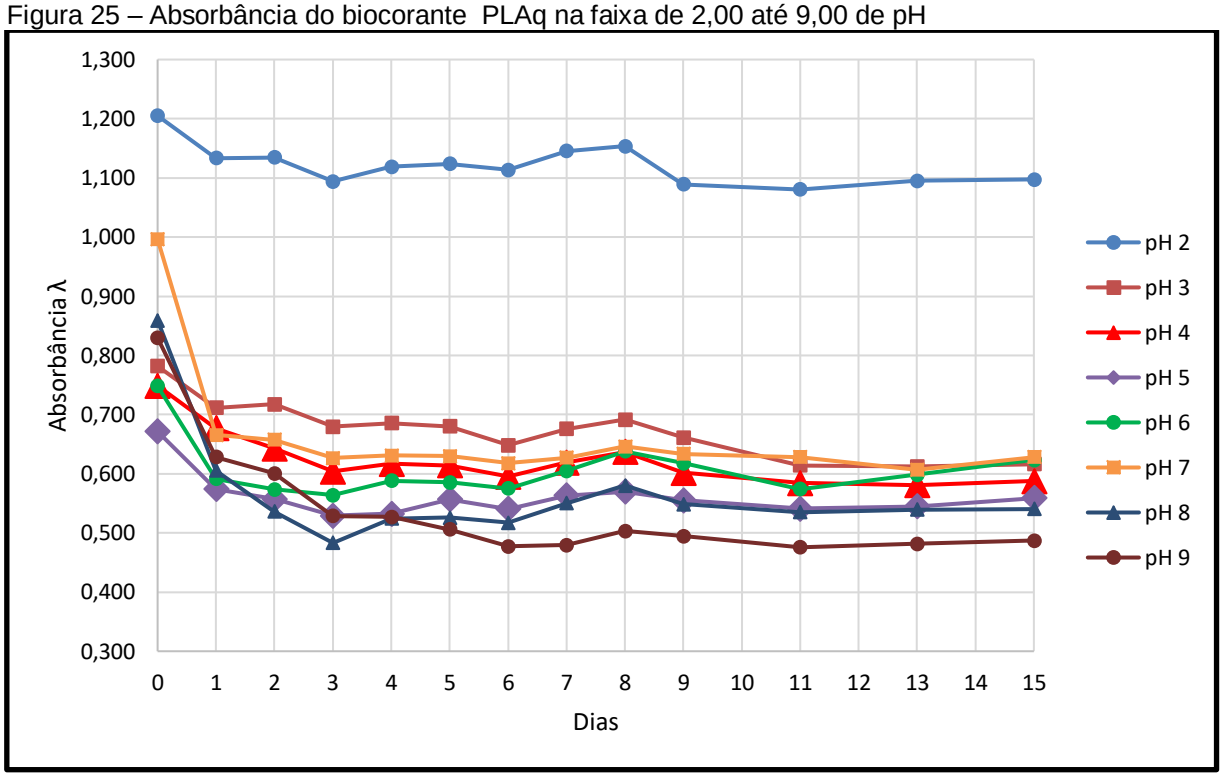


A amostra de biocorante PEAq apresentou a maior queda na absorbância das antocianinas no pH 7,00 e para os pHs mais ácidos (2,00 à 4,00) a amostra apresentou quedas de absorbância que não tiveram diferença significativa das faixas de pHs mais básicas (8,00 e 9,00), continuando com um comportamento diferenciado em relação as demais amostras. Lopes (2007) salienta que a estabilidade da cor das antocianinas além de dependerem de sua estrutura, da temperatura, presença de oxigênio e do pH do meio, dependem também da concentração dos pigmentos, a amostra PEAq teve a mais baixa concentração de antocianinas (2,704 mg/g) de todas as oito amostras de biocorante.

A Figura 25 apresenta a absorbância para a amostra do biocorante PLAq. Pode-se observar que o comportamento da absorbância nas diferentes faixas de pH não foi linear. Para os pHs 7,00, 8,00 e 9,00 foram observados que os maiores

decréscimos de absorbância ficou no primeiro dia, e para os demais 14 dias a taxa decresceu de forma linear apresentando maior estabilidade.

Figura 25 – Absorbância do biocorante PLAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH

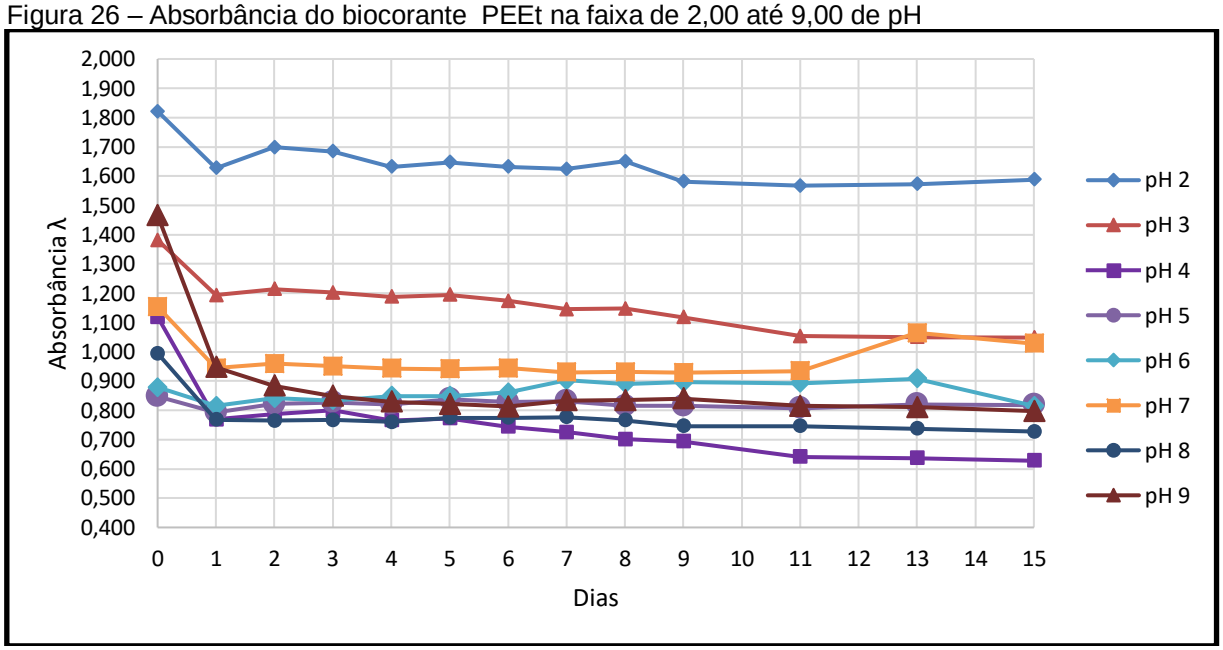


No dia 8 todas as faixas de pH obtiveram um acréscimo na absorbância e no dia 9 tiveram um decréscimo dando sequência ao decréscimo linear até o dia 15 . No pH 8,00 também teve um acréscimo da absorbância no dia 4. O comportamento não linear do decréscimo da absorbância na amostra PLAq se assemelha ao comportamento da amostra PEAq na Figura 24. Ambas as amostras de biocorante foram produzidas com polpa, extração aquosa e diferentes processos de secagem. A amostra PLAq obteve as menores quedas de absorbância para as faixas de pH mais ácidas e as maiores quedas de absorbância para as faixas de pH básicas seguindo os estudos realizados para a estabilidade de antocianinas em diferentes faixas de pHs por Wang et. al. (2010).

Na amostra PEEt apresentada (Figura 26) pode-se observar comportamento linear do decréscimo das absorbâncias em todas as faixas de pH, com exceção do pH 7,00 no dia 13, que teve um aumento da absorbância, fato que pode estar relacionada a algum erro de leitura. No primeiro dia a amostra do biocorante teve uma redução acentuada da absorbância seguindo o mesmo comportamento da demais amostras

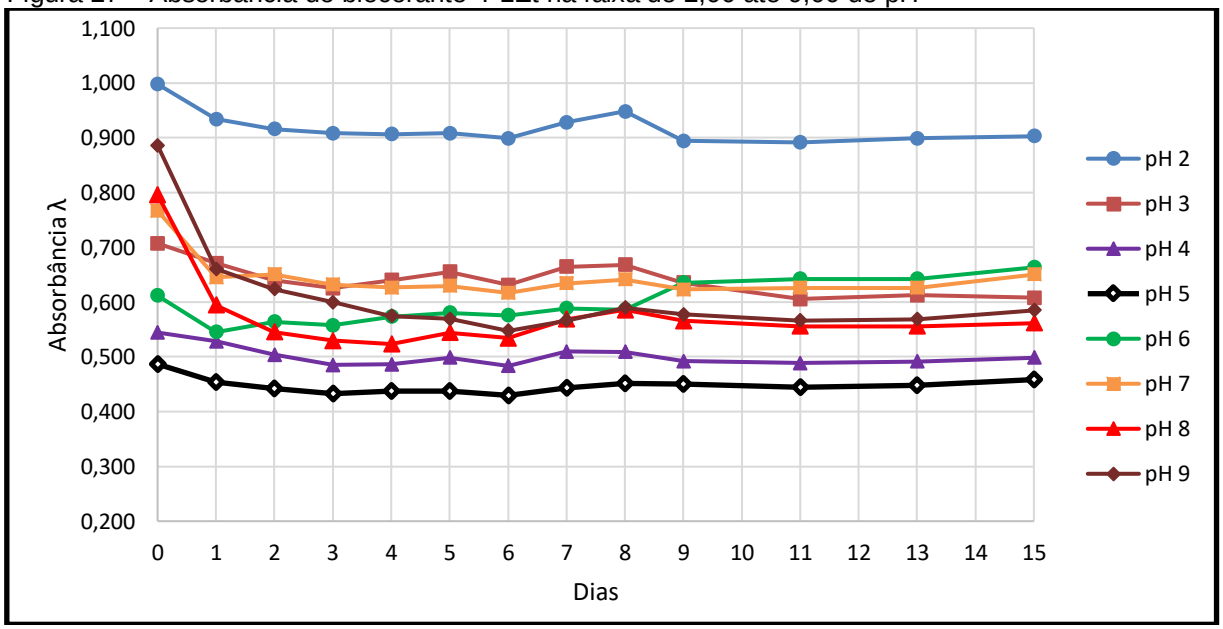
de biocorante. A amostra PEEt obteve a menor queda de absorbância para o pH 5,00 e a maior queda de absorbância foi para o pH 9,00. Constant (2013) também observou maior estabilidade da absorbância das antocianinas para os pHs mais ácidos em relação aos mais básicos.

Figura 26 – Absorbância do biocorante PEEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH



Na Figura 27 está apresentado a absorbância para a amostra do biocorante PLEt.

Figura 27 – Absorbância do biocorante PLEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH

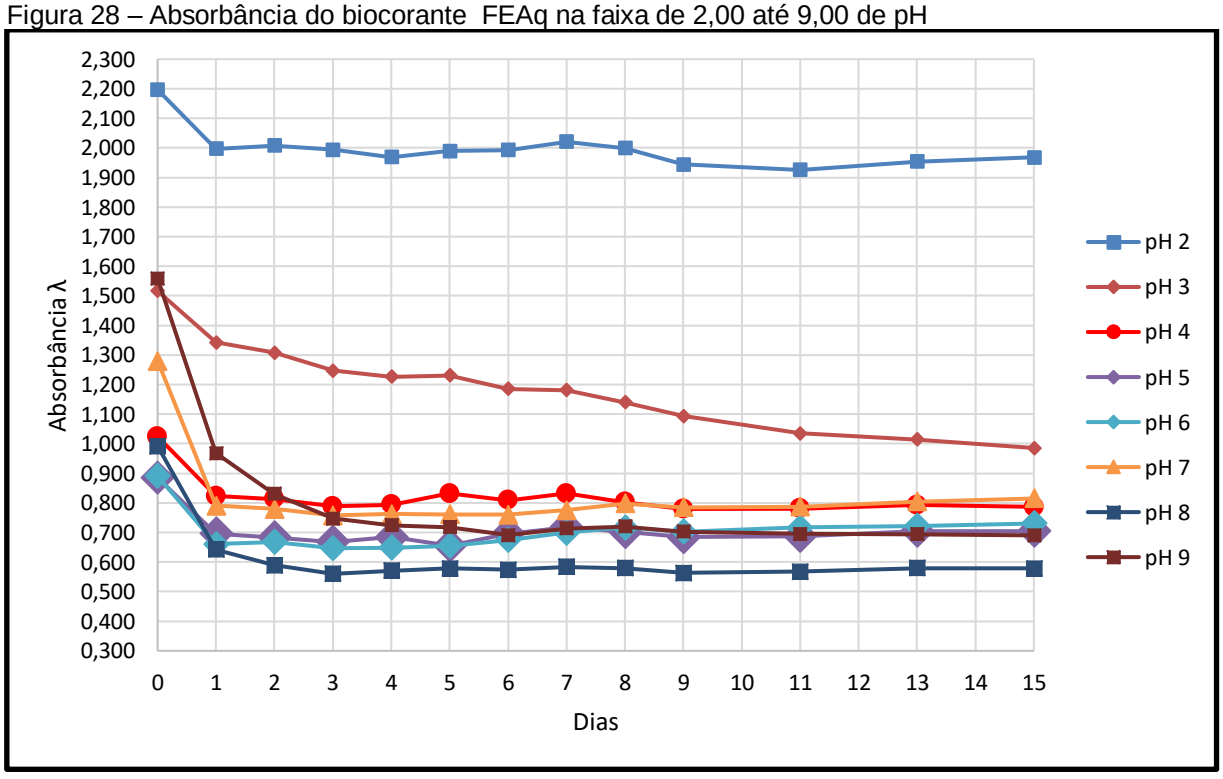


Pode ser observado que o pH 2,00 obteve um leve aumento na absorbância no dia 8 e que o mesmo comportamento obteve para o pH 6,00 no dia 9. No geral a amostra PLEt apresentou comportamento não linearizado semelhante as demais amostras de biocorante que utilizaram a polpa como matéria-prima, que foram PEAq, PLAq e PEEt, Figuras 24, 25 e 26 respectivamente.

Para as faixas mais ácidas de pH a amostra PLEt obteve as menores quedas de absorbância das antocianinas, e para as faixas mais básicas de pH os maiores quedas de absorbância das antocianinas. Segundo Bobbio e Bobbio (1992) a estabilidade das antocianinas ao descoramento aumenta consideravelmente na presença de ácido fenólicos, de flavonoides não antociânicos, taninos e aminoácidos. Compostos presentes na polpa da fruta da palmeira juçara segundo Schultz (2008).

As absorbâncias da amostra FEAq, dissolvida em cada solução tampão do pH 2,00 até pH 9,00, determinadas diariamente por um período de 15 dias está apresentada na Figura 28.

Figura 28 – Absorbância do biocorante FEAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH



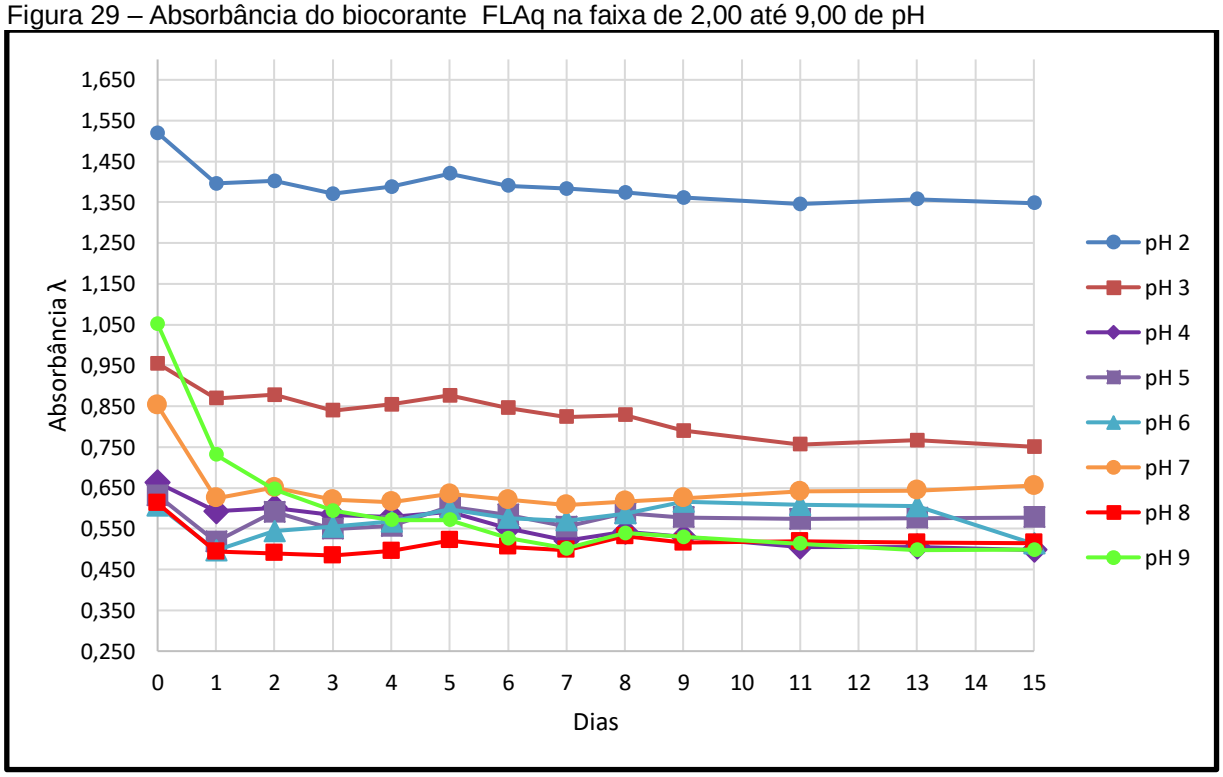
A amostra FEAq apresentou um comportamento linear e decrescente em relação a absorbância em todas as faixas de pH. Apresenta comportamento semelhante as demais amostras de biocorante em relação a redução acentuada da

absorbância no primeiro dia, porém segue o restante do período com decréscimo linear em todas as faixas de pH.

Wang; He; LI (2010) ao estudarem a degradação de antocianinas de extrato de blueberry nas faixas de pH de 1,00 à 9,00 também encontraram maior estabilidade para as faixas mais ácidas de pH.

Na Figura 29 está apresentado a absorbância para a amostra do biocorante FLAq. Pode ser observado que a amostra do biocorante FLAq obteve um comportamento linear da perda de absorbância durante o período do tratamento. A maior perda de absorbância no primeiro dia se assemelha ao comportamento das demais amostras de biocorante.

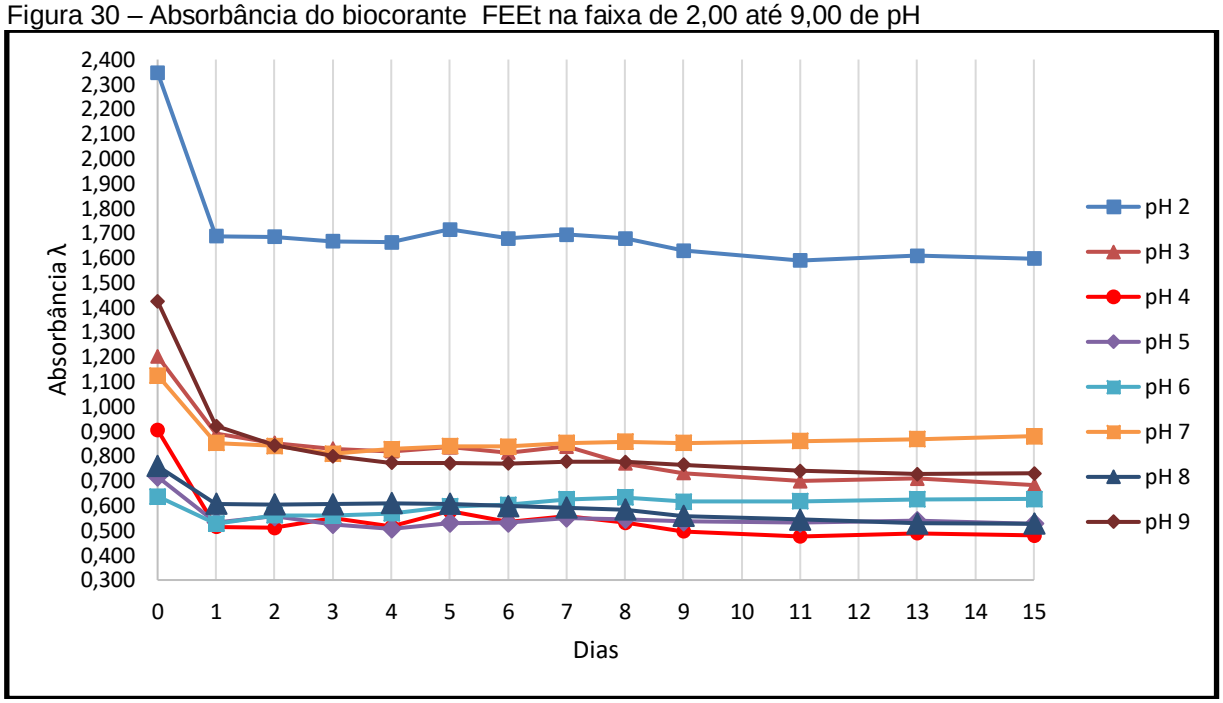
Figura 29 – Absorbância do biocorante FLAq na faixa de 2,00 até 9,00 de pH



Porém, chama a atenção que o biocorante FLAq obteve baixas quedas da absorbância para as antocianinas até o pH 8,00 demonstrando estabilidade ao longo dos 15 dias do tratamento, registrando maior queda da absorbância somente para o pH 9,00. Segundo Wang et al. (2010) as antocianinas são mais estáveis nos pHs mais ácidos. Diferente do encontrado neste estudo para esta amostra.

Na Figura 30 está apresentado a absorbância para a amostra do biocorante FEEt.

Figura 30 – Absorbância do biocorante FEEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH

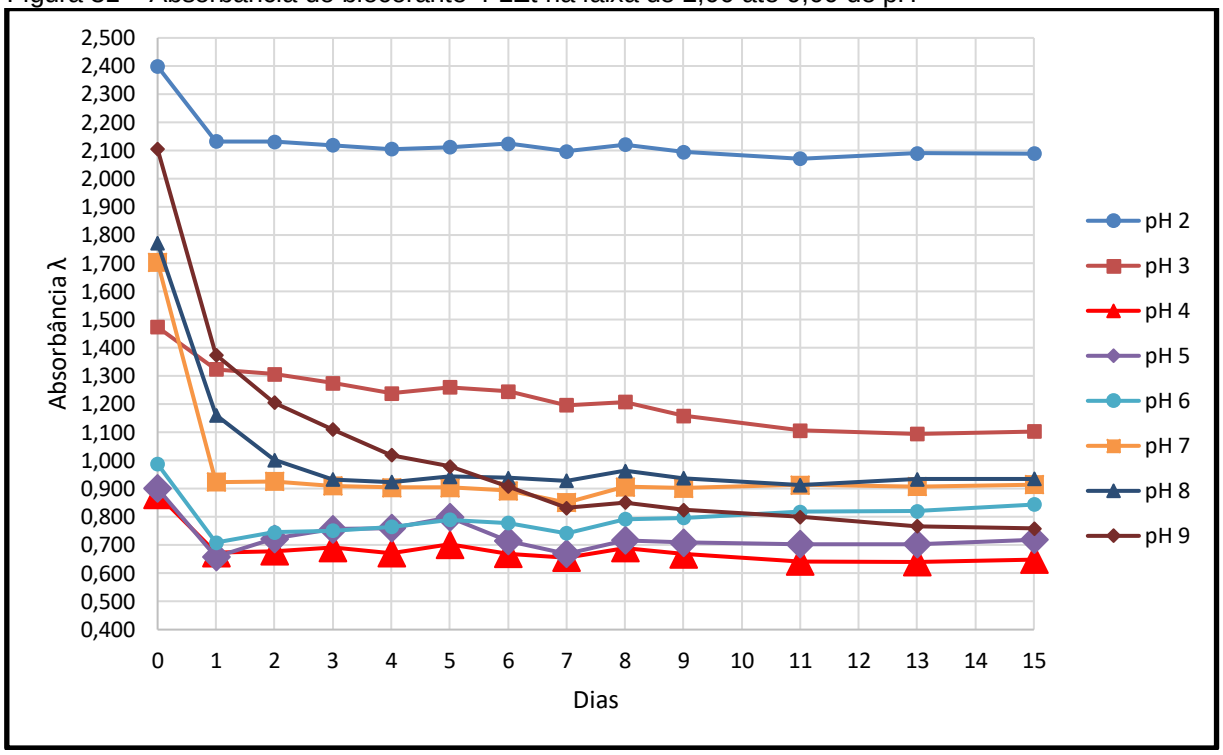


Pode-se observar na Figura 30 que a absorbância tem uma queda acentuada no primeiro dia e nos demais 14 dias tem um comportamento linear. Para as faixas de pHs mais ácidas (2,00, 3,00 e 4,00) a amostra teve as maiores quedas de absorbância das antocianinas, demonstrando um comportamento diferenciado em relação às demais amostras de biocorante. Terci e Rossi (2202) estudaram as antocianinas de jambolão e encontraram baixos valores para as absorbâncias nos pHs, 3,00, 4,00. A amostra FEEt obteve para os pHs 5,00, 6,00 e 7,00 as menores quedas na absorbância das antocianinas.

Na Figura 31 pode-se observar que a amostra FLEt demonstrou queda da absorbância para o primeiro dia, seguindo o padrão das demais amostras.

A amostra FLEt obteve as maiores quedas na absorbância para os pHs 7,00, 8,00 e 9,00, bem como as menores quedas na absorbância para as faixas mis ácidas de pH. No primeiro dia foi observado o maior índice no decréscimo para as faixas de pH mais básicos e para os demais 14 dias a taxa de decréscimo se manteve linear com exceção do pH 9,00 que manteve queda até o dia 15. Resultado bastante semelhante obteve Wang et al. (2010) para o pH 9,00 ao estudar a estabilidade de antocianinas de blueberry por um período de 10 dias.

Figura 31 – Absorbância do biocorante FLEt na faixa de 2,00 até 9,00 de pH



No geral, as amostras de biocorante que foram obtidas utilizando-se a fruta como matéria-prima obtiveram maiores estabilidades, assim como a apresentação linear no comportamento da perda de absorbância ao longo do tratamento e quanto ao solvente ou o método de secagem, não tiveram influência observadas no comportamento da retenção de antocianinas nas amostras do biocorante, pois das 4 amostras que utilizaram a fruta como matéria-prima 2 utilizaram solvente aquoso, 2 utilizaram solvente etanólico, 2 foram submetidas a secagem em liofilizador e duas em secagem por estufa de circulação de ar.

De acordo com a literatura existem quatro formas de equilíbrio das antocianinas em meio aquoso e encontram-se na forma de uma mistura de diferentes estruturas químicas como cátion *flavilium* (AH^+), base quinoidal azul (A), carbinol incolor (B) e chalcona incolor (C). Para valores de pH ácidos AH^+ predomina e apresenta coloração intensamente vermelha correspondendo ao equilíbrio entre o cátion *flavilium* e a estrutura pseudobase carbinol. Para os valores de pHs mais básicos, ocorre uma rápida desprotonação de AH^+ formando a base quinoidal podendo se tornarem incolores em pH 6,00. Aumentando o pH até 8,00 pode formar estruturas que apresentam a cor violeta (anidrobases). Entre o pH 9,00 e 12,00 pode ocorrer a ionização das antocianinas com formação de estruturas que exibem coloração azul,

porém, pode ocorrer o rompimento do anel heterocíclico formando estruturas irreversíveis. (LOPES ET AL., 2007; MARÇO, 2009; WANG et al., 2010).

Wang et al. (2010) acrescenta que as antocianinas na forma AH^+ (cátion flavilium) são menos suscetíveis à queda de absorbância em valores de pH mais ácidos, portanto são mais estáveis.

O estudo do efeito do pH na estabilidade das antocianinas indicou que estes compostos são suscetíveis a mudanças de pH. Estes resultados sugerem que a aplicação destes compostos como biocorantes sejam realizadas em produtos com os valores de pH menores do que 5,00. Isto é coerente com os resultados da maioria dos estudos publicados sobre a estabilidade das antocianinas em diferente faixas de pH.

6 CONCLUSÃO

A avaliação dos parâmetros de extração e secagem das amostras de biocorantes mostra que o parâmetro mais importante para a obtenção do produto é a matéria-prima seguido do tipo de extração (solvente), o parâmetro secagem teve influência somente nas análises da solubilidade que é uma das propriedades mais importantes na produção de um biocorante.

Neste trabalho foram utilizados polpas comerciais e frutas *in natura* da palmeira juçara, sendo observado que na produção das polpas comerciais faz-se necessário aplicação de conceitos de boas práticas de fabricação (BPF). Promovendo melhoria na qualidade do produto final com a devida importância de que os parâmetros de qualidade preconizados pela legislação vigente fossem obedecidos, parâmetros estes avaliados nas análises de qualidade da matéria-prima.

A fruta *in natura* da palmeira juçara demonstrou ser a melhor matéria-prima como fonte para a produção de biocorantes, porém é necessário observar que sendo um produto bastante suscetível à degradação pela ação do ar, recomenda-se que a extração do biocorante deve ser feita logo após a colheita seguida de processo de branqueamento. É relevante salientar que o parâmetro matéria-prima teve influência direta nos resultados das análises de cor, análise de degradação e nas análises dos compostos bioativos das amostras do biocorante.

Entre os dois solventes testados para a produção dos biocorantes a mistura água/HCl a 80 °C foi a que obteve maior rendimento em quantidade, porém não em

concentração de antocianinas. Já para a mistura etanol/acetona/HCl foram obtidos os melhores índices de pigmento em todas as amostras, porém, o maior rendimento em massa de biocorante ficou com a amostra FEEt com 5,20% de rendimento, não diferindo das quantidades obtidas com solvente água/HCl.

Neste trabalho foi constatado que na solubilidade das amostras de biocorante a secagem teve relação direta e que nas análises de degradação em diferentes faixas de pH esta correlação ficou em segundo lugar, nas demais análises o parâmetro secagem teve correlações com a matéria-prima e com o solvente.

Recomendações para trabalhos futuros

Realizar extrações aquosas somente com a fruta *in natura* de juçara dando ênfase para a correta fase de maturação. Logo após a colheita realizar a etapa de branqueamento seguida imediatamente da extração do biocorante.

No processo de extração utilizar variação do tipo de ácido como os de origem orgânica ou então dióxido de enxofre nas extrações aquosa ou etanólica.

Realizar tratamento de redução de partículas nas amostras do biocorante possibilitando maiores índices de solubilidade.

Testar a estabilidade do biocorante em soluções de sacarose, NaCl, Na_2SO_3, bem como outros agentes conservantes.

Testar a estabilidade do pigmento frente a diferentes fontes luminosas.

REFERÊNCIAS

ANAMA. **Frutas nativas : Saúde, conservação ambiental e geração de renda Boletim Informativo**. Maquiné: Disponível em: <http://www.onganama.org.br/Impressos/Boletim_Agroecologia_6_agosto_2012.pdf>.

ALEXANDRE, M.; TEIXEIRA, H. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 268–273, 2007.

ALMEIDA, N. G. DE. Corantes naturais: uso e aplicação industrial. **SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO - SEAB**, p. 1–6, 2008.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA (**ANVISA**) - Resolução n° 387 de 1999.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA (**ANVISA**) - Resolução n° 388 de 1999.

ARAÚJO, M. E. M. DE. **Corantes naturais para têxteis – da Antiguidade aos tempos modernos**. Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 2005.

BARCZAK, A. B. Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants – A review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 14, n. 2, p. 107–115, 2005.

BARROS, A. A. DE; BARROS, E. B. DE P. **A Química dos Alimentos: Produtos Fermentados e Corantes**. IV ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2010.

BARROS, L. et al. Chemical, biochemical and electrochemical assays to evaluate phytochemicals and antioxidant activity of wild plants. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1600–1608, 2011.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arq. Bras Emdocrinol Metab**, v. 53, n. 5, p. 646–656, 2009.

BICUDO, M. O. F. **Composição Fenólica, Atividade Antioxidante e Microencapsulação de Frutos de Juçara (*Euterpe edulis*): Aspectos de Interesse para a Indústria de Alimentos**. 2014, 143 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2014.

BORGES, G. **Determinação de Compostos Bioativos e Avaliação da Atividade Antioxidante das Diferentes Fraçções dos Frutos da Juçara (*Euterpe Edulis* Mart.) Cultivadas no Estado de Santa Catarina**, 2013, 165 p. Tese (Doutorado) - Programa do Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos. Universidade Federal de

Santa Catarina, 2013.

BRACK, P. et al. **Riqueza de Espécies Frutíferas Nativas do Rio Grande do Sul**VI Encontro sobre pequenas frutas e frutas nativas do Mercosul. **Anais**...Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Sci Technol**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRASIL. **Ministério Da Agricultura e Do Abastecimento**. Instrução Normativa n°01 de 07/01/2000.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria n° 540 de 1997**

BUENO, M. A Cor e a Visão Humana. **Revista Dental Press Estétic**, v. 7, n. 1, p. 36–41, 2010.

BURIN, V. M. et al. Characterization and multivariate classification of grapes and wines of two Cabernet Sauvignon clones. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 474–481, 2011.

CASARIN, F. **Secagem da amora-preta (*Rubus sp*.) para a produção de farinha rica em compostos bioativos**. 2013, 100 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Comunitária Regional de Chapecó, 2013.

CIPRIANO, P. de A. **Antocianinas de Açaí (*Euterpe Oleracea Mart.*) e Casca de Jabuticaba (*Myrciaria Jaboticaba*) na Formulação de Bebidas Isotônicas**. 2011. 131 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2011.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, Caracterização e Aplicação de Antocianinas de Açaí (*Euterpe Oleracea*, M)**. 2003, 183 p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2003

DALLOGO, R. M.; SMANIOTTO, A. Resíduos sólidos de curtumes como adsorventes para a remoção de corantes em meio aquoso. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 433–437, 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Quimica de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2010.

EL-BACHÁ, A.; KIM, R. **Estudos do Processo de Secagem da Polpa de Açaí por Liofilização e Atomização**. 2014 63 f. Monografia (Graduação) - Escola Politécnica Universidade de São Paulo, 2014.

ELISIA, I. et al. Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1052–1058, 2007.

FABRI, E. G.; TERAMOTO, J. R. S. Urucum: fonte de corantes naturais. **Journal of the Brasilian Association for Horticultural Science**, v. 33, n. capa, p. 1590, 2015.

FIGUEIREDO, M. J. M. et al. Metodologia para obtenção de antocianinas de frutos de juçara (*Euterpe edulis*). **Science**, p. 6, 2008.

FERREIRA, T. I. da L. **Quantificação de Antocianinas no Fruto, Polpa e Produto Processado da Juçara (*Euterpe Edulis* Martius)**. 2013, 65 f. Monografia (Graduação) - Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade de Taubaté. Taubaté - Sp, 2013

FRAGA, S. et al. **Compostos bioativos da palmeira juçara do litoral norte do Rio Grande do Sul.** Anais do XXIV Congresso brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos. **Anais**...Aracaju, 2014

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantative methods for analysis. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v. 33, p. 72–77, 1968.

GIBNEY, M. J.; MACDONALD, I. A.; ROCHE, H. M. **Nutrição & metabolismo**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GONÇALVES, É. C. B. DE A. **Analise de alimentos: uma visão química da nutrição**. 4. ed. São Paulo: VARELA, 2015.

GROTEWOLD, E. **The Science of Flavonoids The Science of Flavonoids Edited by**. Columbus: Springer Science, 2006.

IAL - **INSTITUTO ADOLFO LUTZ**. Métodos Físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020p.

IDEC. **Infância colorida... E feliz?Revista do IDEC - Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor**. v. 122, p. 20-23, São Paulo: ed. IDEC. Disponível em: <http://www.idec.org.br/em-acao/revista/122/materia/infancia-colorida-e-feliz>.

INSUMOS. Os corantes alimentícios. **Aditivos & Ingredientes**, v. 62, p. 28–39, 2009.

INSUMOS. Corantes naturais. **Aditivos & Ingredientes**, v. 75, p. 38–48, 2011.

JECFA/FAO. Evaluation of certain food additives. **JECFA - Joint FAO/WHO Committee on Food Additives**, v. IV, 2014.

KONICA MINOLTA. Colorimetry Whyte Paper - **Colorimetria: Como Medir Diferenças de Cor**. Disponível em www.sensing.konicaminolta.com.br, consultado em 11 de Nov. de 2016.

LEAL, C. S. M. **Solubilidade de Corantes Azo**. Dissertação (Mestrado) - Química Industrial, Universidade da Beira Interior, Covilhã - Portugal, 2011.

LELIS, C. A. **Caracterização físico-química da interação intermolecular entre vermelho 40 ou vermelho ponceau 4R e albumina do soro bovino**. 2015, 64 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2015.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: Uma Breve Revisão Das Características Estruturais E Da Estabilidade. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 13, n. 3, p. 291–297, 2007.

LORENZI, H. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LORENZI, H.; DE SOUZA, H. M. **Palmeiras no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Editora Plantarum, 1996.
MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. DA. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **B. Ceppa**, v. 25, p. p. 59–82, 2006.

MALIEN-AUBERT, C.; DANGLES, O.; AMIOT, M. . J. Color Stability of Commercial Anthocyanin- Based Extracts in Relation to the Phenolic Composition . Protective Effects by Intra- and Intermolecular Copigmentation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 170 – 176, 2001.

MARÇO, P. H. **Estudo da influência da radiação e pH no comportamento cinético de antocianinas de plantas do genero *hibiscus* por método quimiométrico**. 2009, 214p. Tese (doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 2009.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 207–225, 1987.

MELO et. al., **Capacidade Antioxidante e Identificação da Polpa do Fruto de Juçara (*Euterpe Edulis* Mart.)** Anais, X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia. Juazeiro Bahia, 2015.

MILLER, N. J. et al. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**, v. 84, n. 4, p. 407–412, 1993.

MONTEIRO, R. B. B. **Produção de açaí (*Euterpe Oleracea* mart.) em pó desengordurado através de processo combinado de desidratação e extração supercrítica**. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, 2006.

NAZARÉ, R. F. R. DE; OLIVEIRA, M. DO S. P. DE; CARVALHO, J. E. U. DE. **Avaliação de Progênies de Açaizeiro como Fonte de Corantes Naturais para Alimentos**XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura. **Anais**...Belém, PA: EMBRAPA

Amazônia Oriental, 2002

NEOH, C. H. et al. Biodecolorization of recalcitrant dye as the sole sourceof nutrition using Curvularia clavata NZ2 and decolorization ability of its crude enzymes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 15, p. 11669–11678, 2015.

PASSOS, A. P. da S. **Antocianina Obtida De Fruto De Palmeira Juçara (*Euterpe Edulis* Mart.): Estabilização Com Maltodextrina E Aplicação Em Alimentos.** 2011, 40 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2011.

PERON, D. V. **Determinação da cinética de degradação térmica das antocianinas de espécies disponíveis na região Sul e avaliação da capacidade antioxidante pré e pós-processo**. 2015, 62 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande, 2015.

PINHEIRO, M. C. DE O.; ABRANTES, S. DE M. P. Determinação dos corantes artificiais presentes em balas consumidas por crianças com idade entre 3 e 9 anos. **Revista Analytiva**, p. 10–23, 2015.

PIOVEZAN, M. **Otimização e caracterização química de extrato de amora preta (*Rubus fruticosus* var . Lochness) e seu efeito sobre a dieta hiperlipídica em ratos mediante análise metabolômica**. 2014, 206 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alim. Nutr**, v. 14, n. 2, p. 237–250, 2003.

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, 2007.

REIS, D. C. DA C. et al. **Avaliação da concentração dos corantes amarelo crepúsculo e tartrazina em refrigerantes sabor laranja comercializados em Teresina - PI.**V CONNEPI - Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. **Anais**...Maceió: 2010 Disponível em: <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/

RIBEIRO, L. DE O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. DE S. S. Avaliação da Composição Centesimal , Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçaí (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 4, p. 5–16, 2011.

RODRIGRES, J.; ARAÚJO, M. de C. Corantes naturais amazônicos: um estudo para a aplicação em produtos têxteis de moda. **Diálogos & Ciências,** n. 34, p. 65-71, 2013.

RODRIGUES, P. DA S. **Estudo do uso de corantes artificiais em alimentos e estimativa de ingestão de tartrazina pela população brasileira**. 2015, 103 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Técnologia de

Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e Melhoramento da Conservação**. Pará: UFPA, 2000.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: **determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. v. 125, p. 4, 2006.

RUFINO, M. S. M. D. S. M. et al. Metodologia Científica : Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico on line**, v. 127, p. 0–3, 2007.

RUFINO et. al., Bioactive Compounds and antioxidant capacities of 18 non-tradicional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açaís de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius submetidos a tratamentos para sua conservação**. 2008. 52 f. Monografia (Graduação) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SILVA, M. G. C. P. C.; BARRETTO, W. S.; SERÔDIO, M. H. Comparação nutricional da polpa dos frutos de juçara e de açaí. n. 1, p. 3–4, 2004.

SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, É. T. G. Aplicação de extratos brutos de flores de quaresmeira e azaléia e da casca de feijão preto em volumetria ácido-base. Um experimento para cursos de análise quantitativa. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 408–411, 2001.

SOUZA, E. M. P. DE. **Extração, estabilidade, reologia e higroscopicidade do corante de pitaya (*Hylocereus costaricencis*)**. 2015. 166 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Engenharia de Recursos Naturais, Universidade Federal do Pará, 2015.

SOUZA, R. M. DE. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. 2012. 65 f. Monografia (Graduação) - Curso de Farmácia, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 1. ed. Porto Alegre: Universitat Jaume I, 2006.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297–304, 2008.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores Naturais de PH: Usar Papel ou Solução? **Química Nova**, Vo. 25, n.4, p 684-688, 2002

TURINI, E. Conjuntura Mensal - CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2013.

VISSOTTO, F. Z. et al. Avaliação da influência dos processos de lecitinação e de aglomeração nas propriedades físicas de achocolatado em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 666–671, 2006.

WALLACE, T. C. Anthocyanins in Cardiovascular Disease. **International Review Journal**, v. 2, n. 7, p. 1–7, 2011.

WANG, B. C.; HE, R.; LI, Z. M. The stability and antioxidant activity of anthocyanins from blueberry. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 1, p. 42–49, 2010.

YOO, Y. J.; SALIBA, A. J.; PRENZLER, P. D. Should Red Wine Be Considered a Functional Food ? **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 530–551, 2010.

ZERAIK, M. L.; BOLZANI, V. DA S. **Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos**VI Encontro Sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. **Anais**...Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014