



Fundação Educacional do Município de Assis  
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis  
Campus "José Santilli Sobrinho"

**MAYARA THEREZA FÉLIX SILVA**

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS EM FRUTA,  
POLPA, RESÍDUO E EXTRATO GLICÓLICO DE AMORA-PRETA  
(*Rubus sp*)**

**Assis/SP  
2016**



Fundação Educacional do Município de Assis  
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis  
Campus "José Santilli Sobrinho"

**MAYARA THEREZA FÉLIX SILVA**

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS EM FRUTA,  
POLPA, RESÍDUO E EXTRATO GLICÓLICO DE AMORA-PRETA  
(*Rubus sp*)**

Projeto de pesquisa apresentado ao Curso de Bacharelado em Química Industrial e Licenciatura em Química do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA e a Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, como requisito parcial à obtenção do Certificado de Conclusão.

**Orientanda:** Mayara Thereza Félix Silva.

**Orientador:** Me. Alexandre Vinicius Guedes Mazalli.

**Assis/SP  
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA

SILVA, Mayara Thereza Félix.

**Extração e quantificação de antocianinas em fruta, polpa, resíduo e extrato glicólico de amora-preta (*Rubus sp*)** / Mayara Thereza Félix Silva. Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA – Assis, 2016.

53p.

1. Antocianinas. 2. Amora-preta. 3. Resíduo Industrial

CDD: 660  
Biblioteca da FEMA

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS EM FRUTA, POLPA,  
RESÍDUO E EXTRATO GLICÓLICO DE AMORA-PRETA (*Rubus sp*)

MAYARA THEREZA FÉLIX SILVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA e a Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, como requisito do Curso de Graduação, analisado pela seguinte comissão avaliadora:

**Orientador:** \_\_\_\_\_  
Me. Alexandre Vinicius Guedes Mazalli.

**Examinadora:** \_\_\_\_\_  
Dr.a. Patrícia Cavani Martins de Mello.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de conclusão de curso aos meus pais, Antônio Félix da Silva e Maria Cristina dos Santos e ao meu noivo Vinicius Castelo Martins.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele nada seria possível.

Agradeço a toda minha família pelo apoio e incentivo que tiveram ao longo desses quatro anos de duração do curso, desde a realização do vestibular até a preparação para a formatura, e conclusão de mais uma etapa em minha vida.

Ao meu pai, por ser exemplo de força, humildade e responsabilidade. Por estar presente em todos os momentos da minha vida, sempre cuidando e aconselhando.

À minha mãe, por ter me dado à vida, e sempre passar exemplos grandiosos de uma pessoa guerreira que sempre lutou por nós. Por ser companheira e sempre estar ao meu lado, aconselhando para buscar o melhor.

Ao meu noivo, por todo o incentivo e apoio em todos os momentos, tanto da faculdade quanto os pessoais, sempre estando ao meu lado, cuidando para meu bem. Por ser esse homem que eu tanto admiro, por toda paciência, amor e carinho.

À empresa RICAELI ALIMENTOS por disponibilizar os frutos, polpa e resíduo de amora-preta. Por toda atenção da equipe e ao apoio, sendo que só foi possível a realização do trabalho graças a vocês. Uma empresa que confiou nesse trabalho e em mim.

À Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA e ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA pela oportunidade da realização deste curso. Ao corpo docente, direção e administração.

A todos os professores do curso de Química Industrial, por todo conhecimento que puderam me proporcionar, não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por todos os conselhos, e por serem os responsáveis pela profissional que estou me tornando.

Ao professor Me. Alexandre Vinicius Guedes Mazalli, pela excelente orientação, dedicação, paciência, experiência. E por avaliar cuidadosamente este trabalho e pelas sugestões de aprimoramento.

À professora Dr.a Patrícia Cavani Martins de Mello, que além de banca avaliadora, agradeço pelas orientações cuidadosas e valiosas e as sugestões dadas. Por ser um exemplo de pessoa onde tenho uma imensa admiração.

Ao Centro de Pesquisa em Ciências – CEPECI, onde me proporcionou um excelente estágio, onde adquiri maiores experiências práticas e profissionais de um laboratório.

Aos meus colegas de curso que fizeram destes quatro anos serem mais fáceis e divertidos. Em especial a este grupo de pessoas maravilhosas que tive a oportunidade de estar junto em todos os desafios e conquistas, as amigas, Paula Consoli Ireno Franco, Fabiane Franco, Ane Caroline Freire, e ao amigo Ismar Teodoro Vaz. Agradeço vocês pela parceria, incentivo e, sobretudo a nossa amizade.

A todos que de alguma forma direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho fosse realizado com sucesso.

Faça todo o bem que puder,  
Usando todos os meios que puder,  
De todas as maneiras que puder,  
Para todas as pessoas que puder,  
Durando o maior tempo que puder.

John Wesley

## RESUMO

O produto do processamento industrial de frutas é destinado principalmente para bebidas prontas para o consumo, matéria-prima na composição de outros alimentos industrializados, e também na indústria de cosméticos que utilizam extratos de frutas em suas composições, porém esses processos geram cerca de 30% a 40% de resíduos, dos quais podem ser reutilizados pela própria indústria, obtendo-se outros produtos, gerando opções de renda e benefícios ao meio ambiente e ao homem. Os extratos obtidos através de frutas são utilizados como matérias-primas em formulações cosméticas, por apresentarem resultados excelentes, retardando o envelhecimento da pele, devido à presença de moléculas anti-inflamatórias e antioxidantes. A amora-preta faz parte de um grupo de plantas de gênero *Rubus*, pertencente à família Rosáceas, sendo rica em vitaminas A e B, minerais como o cálcio e apresentando também vários componentes denominados polifenóis, como as antocianinas, que são pigmentos vegetais, pertencentes ao grupo dos flavonóides, responsáveis pela coloração escura do fruto. Devido ao aumento do cultivo nacional, a quantidade de resíduos gerados pela industrialização e a grande variedade de biocompostos, principalmente antocianinas, em comparação a outras frutas e aos benefícios que estes trazem à saúde, o presente trabalho teve por finalidade extrair e quantificar antocianinas presentes em fruta, polpa, resíduo e extrato glicólico de amora-preta, utilizando os métodos de pH Único e de pH Diferencial. Efetuou-se a análise de antocianina de acordo com o método de Teixeira; Stringheta & Oliveira (2008), mediante extração com etanol acidificado com HCl e leitura em espectrofotômetro em 535 nm. Através dos resultados obtidos observou-se que a concentração de antocianina foi satisfatória em todas as extrações, com valores maiores nas amostras de resíduo úmido e desidratado do que polpa e fruta. O método de pH Único mostrou-se mais eficiente para extração de antocianinas em amora-preta, mediante extração com etanol acidificado com HCl. Os resultados obtidos por esse método variaram de 12,78 mg/100g a 71,81 mg/100g de amostra, sendo estes valores maiores do que valores encontrados em extratos de outros frutos ou vegetais.

**Palavras-chave:** Antocianinas, Amora-preta, Resíduo industrial.

## ABSTRACT

The product of industrial processing of vegetables is primarily intended for beverages ready for consumption, the raw material in the composition of other processed foods, and also in cosmetic industry use fruit extracts in their compositions, but these processes generate about 30% 40% waste, which can be reused by the industry, resulting in other products, income generating options and benefits to the environment and to humans. The extracts obtained from fruits are used as raw materials in cosmetic formulations, because they have excellent results, slowing aging of the skin due to the presence of anti-inflammatory and antioxidant molecules. The blackberry part of a group of *Rubus* genus of plants, belonging to the Rosaceae family, being rich in vitamins A and B, minerals such as calcium and also showing various components called polyphenols, like the anthocyanins, which are plant pigments belonging to the group of flavonoids, responsible for the dark color of the fruit. Due to the increase of the national culture, the amount of waste generated by industrialization and the wide variety of biocompounds, especially anthocyanins, compared to other fruits and the benefits they bring to health, this study aimed to extract and quantify anthocyanins present in fruit, pulp, waste and glycolic extract of blackberry, using the methods of pH Single and Differential pH. He conducted the analysis of anthocyanins according to the method of Tan; Stringheta & Oliveira (2008) by extraction with ethanol acidified with HCl and reading in a spectrophotometer at 535 nm. From the results obtained it was observed that anthocyanin concentration was satisfactory in all extractions, with higher values of the samples dehydrated and wet waste than pulp and fruit. The Only pH method was more efficient for anthocyanin extraction blackberry by extraction with ethanol acidified with HCl. The results obtained by this method range from 12.78 mg/100g the 71.81 mg/100g samples, and these values higher than the values found in extracts from other fruits or vegetables.

**Keywords:** Anthocyanins, Blackberry, Industrial waste.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Figura 1:  | (a) Estágios de maturação e (b) tamanho médio da amora-preta ( <i>Rubus sp</i> ) (Acervo pessoal).....      | 16 |
| Figura 2:  | Estrutura da antocianina cianidina-3-glucosídeo encontrada em amora-preta.....                              | 18 |
| Figura 3:  | Estrutura química dos principais tipos de flavonóides.....  | 20 |
| Figura 4:  | (a) Estrutura do cátion flavílico e (b) estrutura da antocianina cianidina.....                             | 20 |
| Figura 5:  | Estrutura da antocianina cianidina-3-glucosídeo.....  | 21 |
| Figura 6:  | Coloração das antocianinas pela influência da substituição dos grupos metoxila e hidroxila na molécula..... | 21 |
| Figura 7:  | Transformações estruturais de antocianinas com mudanças no pH do meio.....                                  | 23 |
| Figura 8:  | Estrutura química da antocianina.....   | 24 |
| Figura 9:  | Fluxograma de obtenção de polpa de fruta congelada.....   | 27 |
| Figura 10: | Escala de pH.....   | 32 |
| Figura 11: | Fluxograma do método para preparação de papel indicador de pH natural.....                                  | 34 |
| Figura 12: | Polpa, frutos maduros e resíduo de amora-preta ( <i>Rubus sp</i> ).....                                     | 37 |
| Figura 13: | Fluxograma do método de preparo de extrato glicólico do resíduo de amora-preta.....                         | 38 |
| Figura 14: | Fluxograma do método de extração de antocianina.....  | 39 |
| Figura 15: | Gráfico de comparação das absorvâncias em obtidas em pH 1,0, pH 2,0 e pH 4,5.....                           | 42 |
| Figura 16: | Sequência de coloração obtida nos pH 2,0, pH 1,0 e pH 4,5.....  | 43 |
| Figura 17: | Gráfico de comparação para o método de pH diferencial (pH 1,0 – pH 4,5) e pH único (pH 2,0).....            | 44 |

## LISTA DE TABELAS

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Tabela 1: | Composição média da amora-preta “in natura” .....  | 17 |
| Tabela 2: | Frutas e plantas com atividades antioxidantes.....   | 25 |
| Tabela 3: | Teores de carotenoides, antocianinas, flavonoides, vitamina C e fenólicos totais presentes em resíduos de frutas.....  | 28 |
| Tabela 4: | Médias das absorvâncias obtidas nas amostras.....  | 41 |
| Tabela 5: | Resultado da quantidade de antocianinas totais presente em cada amostra, em diferentes pHs, expressos em mg/100g.....  | 43 |
| Tabela 6: | Comparação do método de pH diferencial (pH 1,0 – pH 4,5) e pH único da quantidade de antocianinas totais presente em cada amostra, expressos em mg/100g..... | 44 |
| Tabela 7: | Comparação de 10 fontes potenciais de antocianinas encontrados por Teixeira; Stringheta; Oliveira (2008) com os resultados das análises.....                 | 46 |

## SUMÁRIO

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1.</b>  | <b>INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>14</b> |
| <b>2.</b>  | <b>AMORA-PRETA (<i>Rubus sp</i>) .....</b>                              | <b>16</b> |
| <b>3.</b>  | <b>ANTOCIANINAS.....</b>  | <b>19</b> |
| 3.1        | CARACTERÍSTICA FÍSICA.....  | 19        |
| 3.2        | ESTRUTURA QUÍMICA E PROPRIEDADES.....                                   | 19        |
| 3.3        | ESTABILIDADE DA COR DAS ANTOCIANINAS.....                               | 21        |
| 3.4        | EFEITO DO pH.....   | 22        |
| 3.5        | ATIVIDADE ANTIOXIDANTES E ANTIRRADICAIS LIVRES.....                     | 24        |
| <b>4.</b>  | <b>INDÚSTRIA DE POLPAS E RESÍDUOS GERADOS.....</b>                      | <b>27</b> |
| <b>5.</b>  | <b>EXTRATO GLICÓLICO.....</b>   | <b>30</b> |
| <b>6.</b>  | <b>UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS PARA<br/>CONCEITUAÇÃO DO pH.....</b> | <b>31</b> |
| 6.1        | PARTE EXPERIMENTAL.....   | 33        |
| 6.1.1      | <b> Materiais.....</b>  | <b>33</b> |
| 6.1.2      | <b> Metodologia.....</b>  | <b>33</b> |
| <b>7.</b>  | <b>MATERIAS E MÉTODOS .....</b>   | <b>35</b> |
| 7.1        | MATERIAIS.....  | 35        |
| 7.1.1      | <b> Reagentes.....</b>  | <b>35</b> |
| 7.1.2      | <b> Equipamentos.....</b>   | <b>36</b> |
| 7.2        | MÉTODOS.....  | 36        |
| 7.2.1      | <b> Aquisição das amostras.....</b>                                     | <b>36</b> |
| 7.2.2      | <b> Preparo do extrato glicólico do resíduo de amora-preta.....</b>     | <b>37</b> |
| 7.2.3      | <b> Preparo das amostras.....</b>                                       | <b>38</b> |
| 7.2.4      | <b> Extração e quantificação das antocianinas.....</b>                  | <b>38</b> |
| <b>8.</b>  | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                      | <b>41</b> |
| 8.1        | <b> DETECÇÃO ESPECTROMÉTRICA.....</b>                                   | <b>41</b> |
| 8.2        | <b> CONCENTRAÇÕES DE ANTOCIANINAS TOTAIS.....</b>                       | <b>43</b> |
| <b>9.</b>  | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>  | <b>48</b> |
| <b>10.</b> | <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>49</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A amora-preta é rica em antocianinas, que são pigmentos vegetais, que variam do vermelho ao violeta e azul. Grande parte dos pigmentos responsáveis pela coloração é formada por compostos fenólicos, pertencentes ao grupo dos flavonóides. No reino vegetal são amplamente distribuídos pela variedade de cores observadas em frutas, flores, caules, algumas folhas e raízes de plantas. A coloração apresentada pelo tecido vegetal pode depender de fatores variados, tais como, o pH, temperatura, presença de íons, luminosidade, hormônios, açúcares e concentrações de antocianina dissolvida (LIMA et al., 2002).

Em diversas áreas há um grande interesse sobre o estudo das antocianinas, por proporcionarem uma excelente tonalidade de cor, são utilizadas como corante natural, em produtos ácidos, com baixo pH, apresentando tonalidade de cor vermelho brilhante, podendo assim, substituir corantes sintéticos. Na indústria destacam-se na fabricação de extratos, na área da saúde por ter grande potencial terapêutico, e no ensino em química utilizadas como indicadores naturais de pH (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

A amoreira preta tem baixo custo de implantação e manutenção, a destinação do produto é principalmente ao mercado “in natura”, e como matéria-prima em indústrias de produtos congelados (polpas), apresentando também ampla aplicação para fabricação de geléias e sucos naturais (JACQUES, 2009).

O resíduo produzido através do processamento industrial de frutas chega a ser cerca de 30% a 40%, especialmente proveniente das cascas, talos, caroços e sementes, a reutilização desse resíduo pode apresentar finalidades benéficas ao homem e ao meio ambiente (FILHO & FRANCO, 2015). Por apresentar grande quantidade de nutrientes, vitaminas e biocompostos como as antocianinas, os resíduos industriais são ótimos insumos para outros segmentos, como na elaboração de subprodutos na indústria cosmética, em exemplo os extratos glicólicos, podendo assim apresentar resultados satisfatórios (MALLMANN, 2011).

O destaque do mercado de cosméticos são os produtos formulados com extratos vegetais, agregando valor e ganhando destaque no cenário nacional. Os extratos são

utilizados como matérias-primas em formulações cosméticas, por apresentarem resultados excelentes, retardando o envelhecimento da pele, devido à presença de moléculas anti-inflamatórias e antioxidantes (BALOGH, 2011).

As antocianinas apresentam benefícios à saúde se forem consumidas como parte de uma dieta ou na exposição de produtos para pele, a quantidade desses antioxidantes são considerados como aliados no retardamento e prevenção de doenças, por apresentarem diminuição da oxidação e atuarem contra os radicais livres (LIMA et al., 2002).

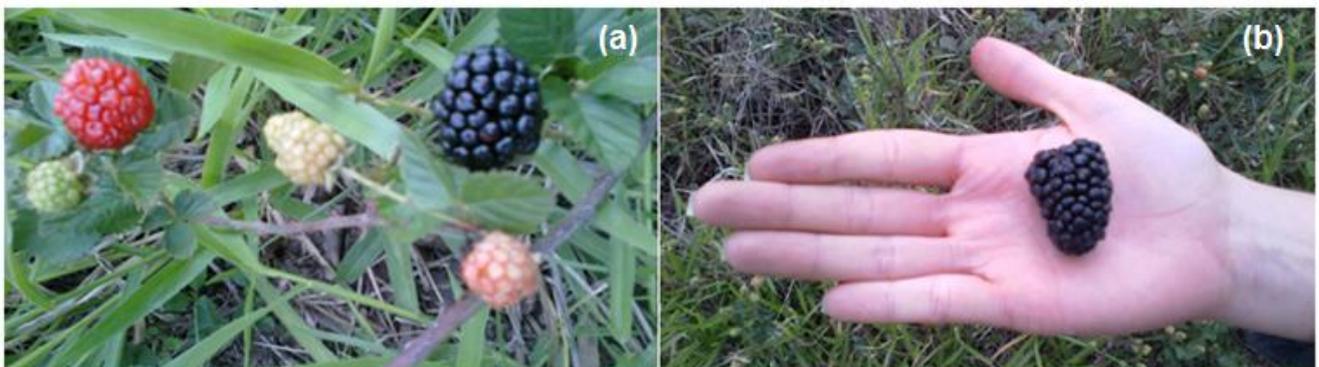
A amora-preta faz parte de um grupo de plantas de gênero *Rubus*, pertencente à família Rosáceas, é rica em vitaminas A e B, minerais como o cálcio, altamente nutritiva contendo 85% de água, 10% de carboidratos aproximadamente. Apresenta vários componentes denominados polifenóis, como as antocianinas (VIZZOTTO et al., 2012). A antocianina encontrada com maior concentração em amora-preta, cerca de 80% do total de antocianinas na fruta é a cianidina-3-glucosídeo (VIZZOTTO, 2012).

O cultivo da amoreira preta vem crescendo em diversas regiões do Brasil, tais como, nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul, onde este se apresenta como o maior produtor de amoras-pretas (VIZZOTTO et al., 2012).

Devido ao aumento do cultivo nacional, a quantidade de resíduos gerados pela industrialização e a grande variedade de biocompostos, principalmente antocianinas, em comparação a outras frutas e aos benefícios que estes trazem à saúde, é importante seu estudo e aplicação. O presente trabalho teve por objetivo extrair e quantificar antocianinas presentes em fruta, polpa, resíduo e extrato glicólico de amora-preta.

## 2. AMORA-PRETA (*Rubus sp*)

A amora-preta pertence à família Rosáceas, do gênero *Rubus*, contendo aproximadamente, 740 espécies divididas, entre 12 a 15 subgêneros. Essa frutífera possui porte ereto ou rasteiro, os frutos têm em média de quatro a sete gramas, apresentam coloração forte e negra, como apresentado na Figura 1. É uma fruta que possui sabor marcante, apreciado por animais e pelo homem devido seu sabor levemente ácido e adocicado. Tem baixo custo de produção, facilidade no manejo, necessita de pouca utilização de defensivos agrícolas. Representa uma ótima opção para diversificação de pequenas propriedades, por ser rústica e de alta produção (FAVARO, 2008).



**Figura 1:** (a) Estágios de maturação e (b) tamanho médio da amora-preta (*Rubus sp*) (Acervo pessoal).

Segundo a Tabela 1 a amora-preta “in natura” é altamente nutritiva, contendo quantidades significativas de biocompostos além de quantidades menores de vitamina A, vitamina E, folatos, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, vitaminas B-6 e B-12; ácidos graxos saturados; ácidos graxos monoinsaturados; e de ácidos graxos polinsaturados. No entanto, este fruto apresenta apenas cerca de 50-55 calorias em 100 gramas (EMBRAPA, 2008).

| Composição média da amora-preta "in natura" |                  |             |         |
|---|------------------|-------------|---------|
| Componentes                                 | Quantidades em % | Componentes | mg/100g |
| Água  | 87-93            | Cálcio      | 32,0    |
| Proteínas                                   | 1,5              | Fósforo     | 21,0    |
| Fibras                                      | 3,5 – 4,7        | Potássio    | 196,0   |
| Cinzas                                      | 0,19 – 0,47      | Magnésio    | 20,0    |
| Lipídeos                                    | 0,03 – 0,08      | Ferro       | 0,57    |
| Carboidratos                                | 6 – 13           | Selênio     | 0,60    |
|   |                  | Vitamina C  | 21,0    |

**Tabela 1:** Composição média da amora-preta "in natura" (In: EMBRAPA, 2008).

O cultivo da amoreira preta começou na segunda metade do século XIX nos Estados Unidos, onde é mais conhecida como *blackberry*. No Brasil, em 1972, no Estado do Rio Grande do Sul, no Centro de Pesquisa da Embrapa Clima Temperado, foram introduzidas as primeiras mudas de culturas. A cultura da amoreira preta apresentou fácil adaptação e hoje tem alcançado alta produtividade (JACQUES, 2009).

A partir da sua implantação no estado do Rio Grande do Sul, estendeu-se para diversos estados como o de Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e São Paulo. O município que é considerado como o maior produtor nacional, produzindo cerca de 700 toneladas/ano é o de Vacaria-RS. A produção da amoreira preta sob condições adequadas, pode alcançar até 10.000/Kg/ha/ano (OLIVEIRA et al., s.d.).

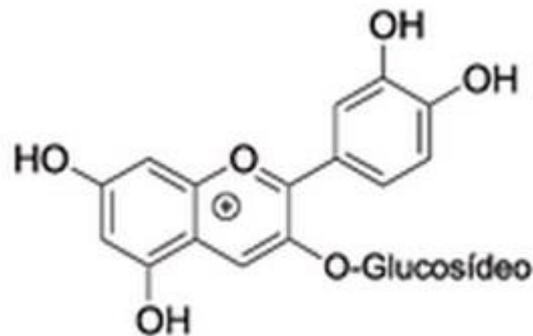
Estes frutos podem ser consumidos na forma de sub-produtos como sucos, geléias, e como ingrediente em sorvetes e iogurtes. O consumo regular dessa fruta está associado a um estilo de vida saudável. Se forem incluídos em uma dieta equilibrada e exercícios físicos, está associado com o baixo risco de incidência e mortalidade, pois podem prevenir alguns tipos de doenças, sendo capazes de reagir com radicais livres, contribuindo para prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. Apresentam também atividade antialérgica, anti- inflamatória, antimicrobiana, entre outras (JACQUES & ZAMBIAZI, 2011).

Nas indústrias, podem ser utilizadas como corante natural, em preparação de alimentos e cosméticos, reduzindo assim o uso de corantes artificiais (JACQUES & ZAMBIAZI, 2011).

Em sua composição apresentam-se compostos fenólicos, dentro dessa classe se destacam os carotenóides e principalmente as antocianinas. Esses compostos são responsáveis pela ação antioxidante, possuindo a capacidade de doar elétrons ou hidrogênios a radicais livres (FERREIRA; ROSSO; MERCADANTE, 2010).

apresenta um exemplo de antocianina presente na maioria dos vegetais, a cianidina-3-glucosídeo

A cianidina-3-glucosídeo representada pela Figura 2 é um exemplo de antocianina presente na maioria dos vegetais (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008). Apresentando cerca de 80% do total de antocianinas presentes em amora-preta (VIZZOTTO, 2012).



**Figura 2:** Estrutura da antocianina cianidina-3-glucosídeo encontrada em amora-preta. (In: MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008, p. 1218).

### 3. ANTOCIANINAS

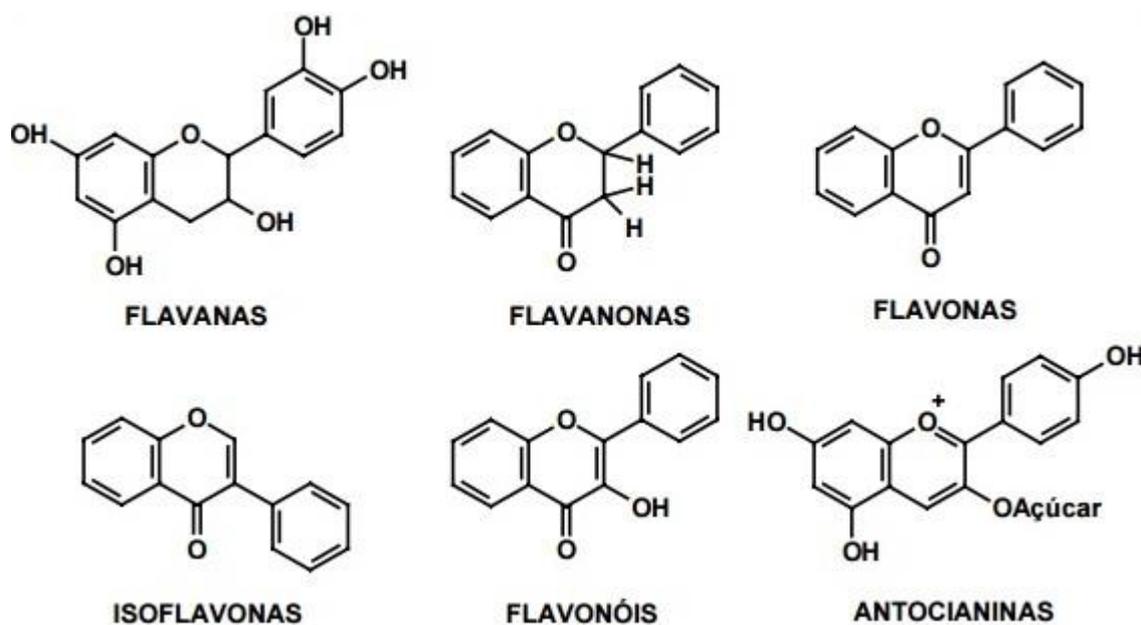
#### 3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

As antocianinas são pigmentos naturais responsáveis pela coloração de uma variedade de vegetais, flores e frutas. Esses pigmentos se encontram dispersos nos vacúolos celulares. Seu espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando tons de púrpura, que são resultados da mistura de ambas as cores (VOLP et al., 2008). Nos vegetais, duas das suas principais funções são a proteção dos diversos tecidos da planta de processos oxidativos e a atração de agentes polinizadores e dispersores de sementes (CARDOSO; LEITE; PELUZIO, 2011).

#### 3.2 ESTRUTURA QUÍMICA E PROPRIEDADES

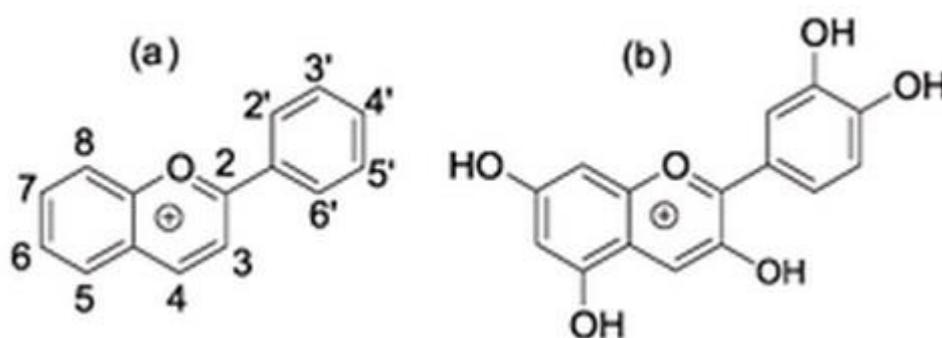
As antocianinas fazem parte de um importante grupo, denominado flavonóides que proporcionam as cores encontradas em produtos naturais, vivíveis ao olho humano. Os flavonóides possuem estrutura marcada pela presença de um esqueleto com 15 átomos de carbono na forma  $C_6-C_3-C_6$ , e são divididos em classes dependendo do estado de oxidação do anel central pirano (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

As classes mais importantes são: antocianinas, flavanas, flavanonas, flavonas, isoflavonas. A Figura 3 apresenta a estrutura química dos principais tipos de flavonóides (FAVARO, 2008).



**Figura 3:** Estrutura química dos principais tipos de flavonóides (In: FAVARO, 2008, p. 7).

As antocianinas ocorrem na natureza como glicosídeos de antocianidinas, apresentam como estrutura fundamental o cátion flavílico (2-fenilbenzopirilium). A Figura 4a e 4b apresenta a estrutura conhecida como cianidina (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

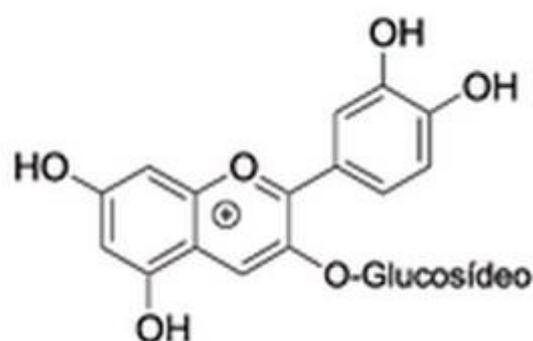


**Figura 4:** (a) Estrutura do cátion flavílico e (b) estrutura da antocianina cianidina (In: MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008, p. 1218).

Derivadas das antocianidinas, os pigmentos ocorrem geralmente na forma de antocianinas. As antocianidinas não possuem grupos glicosídeos e a maioria possui hidroxilas nas posições 3, 5 e 7. Nas antocianinas podem estar ligados ácidos fenólicos, como caféico, fenílico, vanílico e *p*-coumárico. Estão ligadas a açúcares, uma ou mais

destas hidroxilas, sendo as mais comuns xilose, arabinose, ramnose, galactose, glicose ou dissacarídeos.

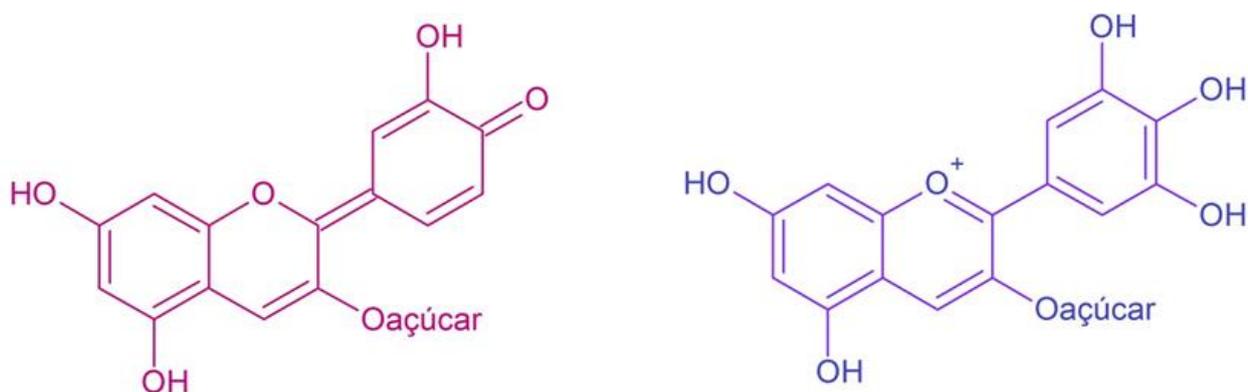
Comparado às antocianidinas, o açúcar presente nas moléculas de antocianinas conferem maior estabilidade e solubilidade a estes pigmentos. A Figura 5 apresenta um exemplo de antocianina presente na maioria dos vegetais, a cianidina-3-glucosídeo (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).



**Figura 5:** Estrutura da antocianina cianidina-3-glucosídeo (In: MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008, p. 1218).

### 3.3 ESTABILIDADE DA COR DAS ANTOCIANINAS

A coloração das antocianinas ilustrada pela Figura 6 é diretamente influenciada pela substituição dos grupos metoxila e hidroxila na molécula. Os números de grupos metoxilas aumentam a coloração vermelha. Na direção contrária, os números de grupos hidroxila aumentam a coloração azulada.



**Figura 6:** Coloração das antocianinas pela influência da substituição dos grupos metoxila e hidroxila na molécula.

A inibição do cátion flavílico, que possui coloração vermelha, ocorre na presença de um ou mais grupos acila na molécula de antocianina. Quando isso ocorre, permite a formação da base quinoidal, com tonalidade azulada, o que resulta na formação de pigmentos menos sensíveis às mudanças de pH, o meio é mantido levemente acidificado a neutro. E não se forma a base carbinol, de coloração incolor. É primordial definir as condições de obtenção do pigmento, de forma que este apresente o mínimo de alterações em suas características. Em meio ácido, é maior a estabilidade das antocianinas. A estabilidade da cor depende da estrutura e da concentração dos pigmentos, entre outros fatores como, presença de oxigênio, temperatura e o pH (FERREIRA, 2013).

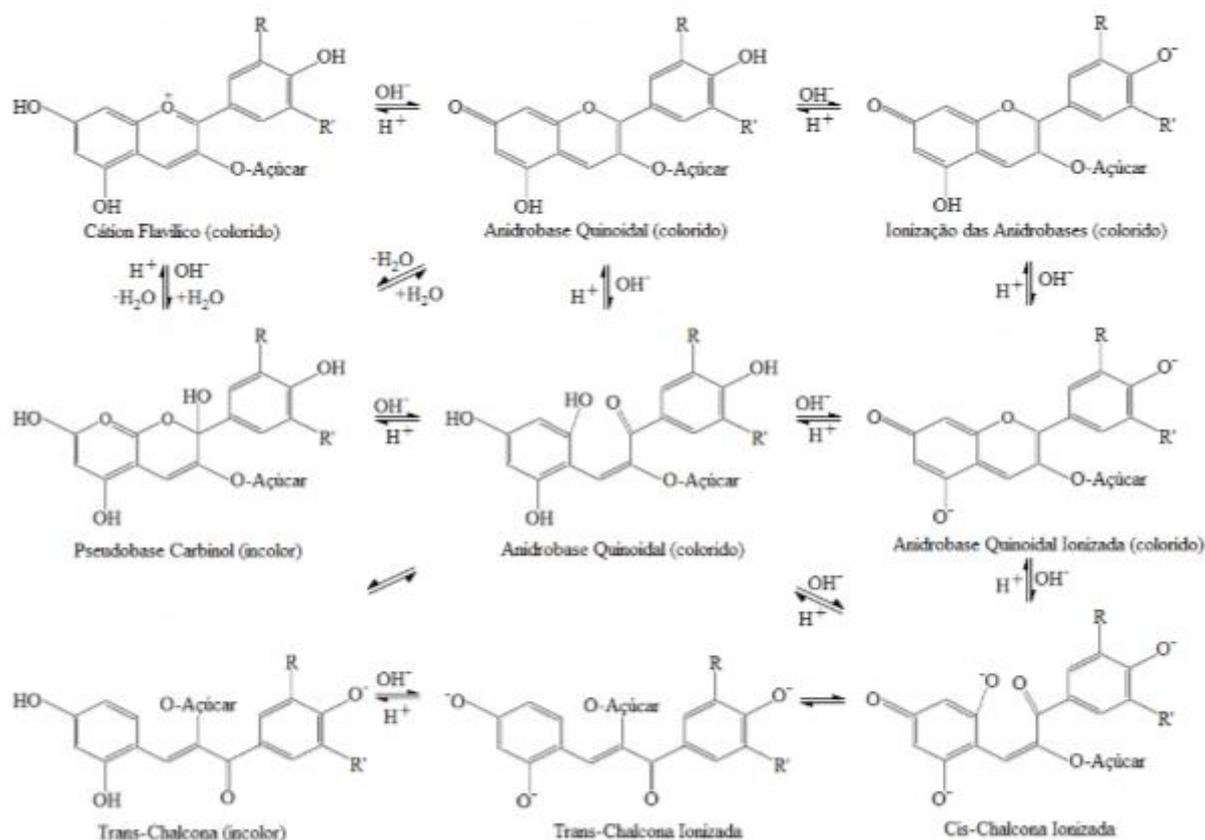
### 3.4 EFEITO DO pH

O principal responsável pela sensibilidade das antocianinas é o pH, afetando a estabilidade química e a cor. Em soluções ácidas, a antocianina é vermelha, com o aumento do pH a estabilidade e a cor são afetadas. Em soluções alcalinas (básicas), a antocianina, apresenta cor azul, porém é instável. Quando tratadas com calor, manifestam mudança da pigmentação do azul para amarelo. Antocianinas em meio ácido são mais estáveis, e podem ser encontradas em formas químicas diferentes, quando estão em solução aquosa (FERREIRA, 2013).

Willstätter e Robinson, no início do século XX, relacionaram as antocianinas como pigmentos responsáveis pela coloração em vegetais, e que seus extratos variavam em função do pH que se encontravam no meio. Essa variação de pH, devido as propriedades das antocianinas, apresentam várias cores diferentes, podendo ser utilizadas como indicadores de pH natural. No Ensino de Química podem ser utilizadas para aplicações didáticas, para determinar o pH de matérias de uso doméstico, como, vinagre, limão, bicarbonato de sódio entre outros, e para indicar o ponto final de titulações ácido-base (FAVARO, 2008).

Em valores de pH ácido, aproximadamente pH 2, antocianinas se apresentam na forma de cátion flavílio, onde este apresenta coloração vermelha. Ao acontecer o equilíbrio ácido-base ocorre uma reação de protonação desse íon ou de hidratação do cátion. Primeiro a reação gera um produto de coloração incolor, uma pseudobase, chamada carbinol que em meio neutro, aproximado em pH 6 se transforma em chalcona, que

igualmente é um produto incolor. A segunda reação produz uma base quinoidal, onde esta apresenta coloração azul, nesta etapa apresenta-se em co-equilíbrio com o cátion flavílio. A Figura 7 ilustra o esquema geral dos equilíbrios que ocorrem com o cátion flavílio, em função do pH do meio (FERREIRA, 2013).

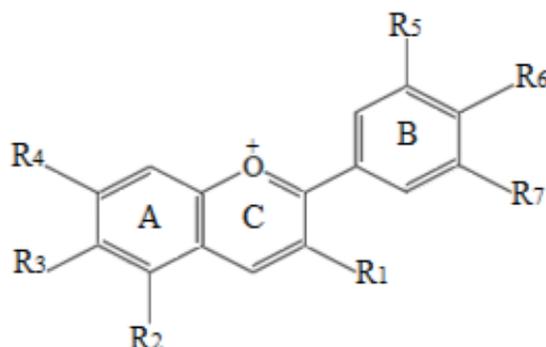


**Figura 7:** Transformações estruturais de antocianinas com mudanças no pH do meio (In: FERREIRA, 2013, p. 20).

Conforme é alterado o pH do meio, podem ocorrer mudanças representativas nos máximos de absorção no espectro UV-Vis das antocianinas. Isto ocorre porque ao se aumentar o pH do meio, apresenta uma diminuição do número de ligações duplas conjugadas, estas ligações são responsáveis pelo aumento nos máximos de absorção das substâncias, pela protonação do cátion flavílio. Quando ocorre a diminuição das ligações duplas conjugadas, o máximo de absorção das antocianinas permite que essas se desloquem para um comprimento de onda menor, portanto assim é caracterizada a perda de coloração (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

Métodos baseados pela espectrometria UV-Vis estão sendo utilizados, onde antocianinas têm uma absorção intensa na faixa de 520 a 560nm. Espectros visíveis de antocianinas

apresentam intensidade máxima em amostras mais coloridas. Sugere-se que essa absorção UV pode ser atribuída principalmente ao anel A, enquanto que o anel pirano e o anel B refere-se à absorção visível. A Figura 8 representa a estrutura química genérica da antocianina e seus respectivos anéis (FERREIRA, 2013).



**Figura 8:** Estrutura química da antocianina (In: FERREIRA, 2013, p. 28).

De acordo com as variações de pH, quando antocianinas são aplicadas em alimentos ou cosméticos podem variar de cor. Desta forma devem ser empregadas como corantes naturais em produtos com pH mais estáveis. Em produtos ácidos apresenta-se a coloração vermelha brilhante, entretanto em soluções aquosas podem apresentar diferentes estruturas, portanto ao serem aplicadas em determinado produto deve ser feito controle do pH para que não afetem a coloração final desejada (FALCÃO et al., 2007).

### 3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTES E ANTIRRADICAIS LIVRES

As antocianinas agem como um ótimo antioxidante, neutralizando os efeitos causados pelos processos oxidativos, que são gerados pelo consumo natural de oxigênio. O nosso organismo, quando em condições normais podem neutralizar de forma natural as espécies reativas de oxigênio, por sistemas antioxidantes. Quando os antioxidantes no nosso corpo se encontram em baixas concentrações podem gerar danos na pele, e causar envelhecimento precoce das células, assim como câncer de pele e outras doenças relacionadas (BALOGH, 2011).

Dessa maneira, para retardar e melhorar o processo de envelhecimento precoce, devemos fazer a utilização de substâncias antioxidantes, onde estas possam prevenir ou

diminuir a oxidação, adquirindo antioxidantes na alimentação ou na exposição de produtos para pele. Em formulações cosméticas, um dos principais princípios ativos são os antioxidantes para combater os radicais livres, os extratos vegetais ricos em compostos fenólicos, como as antocianinas, tem essa propriedade. (JASKI; LOTÉRIO; SILVA, s.d.).

Hoje há um grande interesse da indústria pela utilização de antioxidantes naturais, já que os sintéticos estão sendo restringidos constantemente devido aos efeitos negativos e prejudiciais à saúde. Os estudos por esses extratos naturais são sobre os compostos fenólicos, dividindo o grupo dos não flavonóides e os flavonóides, onde se encontram as antocianinas (TOBAL; SILVA; BOSCOLO, s.d.).

Há um grande interesse pelas indústrias sobre a aplicação de pigmentos naturais e a atividade antioxidante que eles apresentam, sendo essenciais para agregação de valor e a imagem dos produtos finais, como a funcionalidades e bens que esses produtos trazem ao consumidor (SILVA et al., 2004).

Diversas plantas e frutas apresentam esta ação, por possuírem biocompostos em sua estrutura, a Tabela 2 mostra as principais fontes de antioxidantes e seus componentes de ação (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

| <b>Frutas e plantas com atividade antioxidantes</b>       |  |
|---|--|
| <b>Alimento ou derivado</b>                               | <b>Compostos com ação antioxidante</b> |
| Açaí, Cacau, Guaraná, Chá Verde, Chá Branco, Chá Vermelho | Polifenóis (catequinas, taninos)       |
| Café Verde, Mate, Alecrim                                 | Ácidos fenólicos                       |
| Açaí, Uva, Morango, Hisbisco                              | Antocianinas                           |

**Tabela 2:** Frutas e plantas com atividades antioxidantes (In: FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009, p. 26).

A literatura evidencia que o consumo de alimentos ricos em antocianinas tem relação fortemente protetora contra o estresse oxidativo, como por exemplo, reduz os danos ao DNA, onde estes são capazes de desencadear processos inflamatórios, evitando dessa forma a carcinogênese. As antocianinas mostram-se em unânime benefício na aterosclerose. Além das frutas que contêm antocianinas apresentarem redução dos níveis

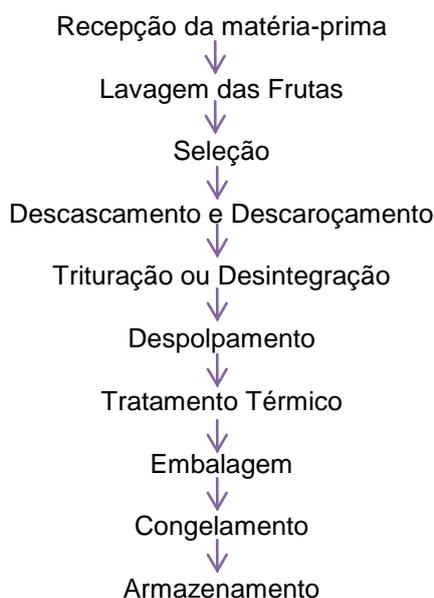
de colesterol LDL e aumentos positivos do HDL prevenindo desta forma doenças cardiovasculares (SANTOS et., 2014).

Antocianinas extraídas de algumas espécies de frutas podem ser aplicadas na conservação de alimentos industrializados. Os extratos podem variar de acordo com cada fruta, e para o uso a indústria deve seguir vários padrões para poder comercializar e distribuir o produto com esse conservante natural, entre as exigências devem ser feitas análises sensoriais para obter certeza de como se comportará em um determinado alimento, onde o sabor, aroma, tempo de degradação dos componentes, adstringência natural, tudo deve ser analisado (TOBAL; SILVA; BOSCOLO, s.d.).

Assim, de acordo com as propriedades funcionais que as antocianinas tendem a fornecer, aumentam cada vez mais os estudos direcionados às pesquisas por diversas fontes que possuem antocianinas em sua composição, focando determinar o conteúdo de antocianinas, a capacidade de atividade antioxidante, potencial de pigmentação desses compostos naturais, podendo assim ser aplicados na indústria alimentícia e cosmética (GORINSTEIN et al., 2004).

## 4. INDÚSTRIA DE POLPAS E RESÍDUOS GERADOS

A polpa de fruta é obtida através de processamento industrial, onde se deseja obter um aspecto de uniformidade, as frutas são desintegradas ou trituradas, após são despulpadas em máquinas despulpadeiras, das quais separam a polpa do resíduo. Os resíduos gerados pela indústria de polpa de frutas podem apresentar algumas variações que depende do tipo de fruta a ser processada, os subprodutos são as cascas, sementes, caroços, talos e até mesmo uma quantidade de polpa que saem das máquinas junto ao resíduo. Em seguida passam por processos de pasteurização, congelamento, enlatamento asséptico ou aditivo químico, a polpa pode ser preservada, para posterior armazenamento e distribuição. A Figura 9 mostra o fluxograma onde representa de maneira genérica o processo de obtenção de polpa de fruta congelada (MORAES, 2006).



**Figura 9:** Fluxograma de obtenção de polpa de fruta congelada (In: MORAES, 2006, p. 4).

Sua destinação é principalmente para bebidas prontas para o consumo, matéria-prima na composição de outros alimentos industrializados, e também na indústria de cosméticos que utilizam frutas em suas composições (LAURINO, 2010).

Entre os maiores produtores de frutas destacam-se a China, produzindo cerca de 134.477.183 toneladas, China Continental 131.826.500 toneladas, Índia 74.836.069

toneladas e em quarto lugar o Brasil produzindo 40.966.591 toneladas de frutas, resultados estes levantados no ano de 2011, em sequência Estados Unidos, Itália, Indonésia, México, Espanha, Turquia e Irã com 11.770.698 toneladas de sua produção territorial (FILHO & FRANCO, 2015).

Porém todo o processamento de frutas gera grande quantidade de resíduos. Esses resíduos podem por um processo simples, serem reutilizados pela própria indústria, obtendo-se outros subprodutos, gerando mais uma opção de renda, vendo que estes resíduos são compostos por fibras, minerais, vitaminas, além de compostos antioxidantes e nutrientes essenciais. Essa finalidade é benéfica ao meio ambiente e ao homem, pois esses resíduos orgânicos descartados indevidamente contaminam o solo e água, modificando as características físicas e químicas, ocasionando o descontrole da vida aquática e da flora (MELO, 2015).

Calcula-se que o aproveitamento das frutas processadas não ultrapassa os 85% e com isso, os resíduos gerados chegam a ser cerca de 30% a 40%, sendo de grande importância agregar interesses econômicos, através de investigação científica e tecnológica para a reutilização como matéria-prima em outros setores. A Tabela 3 apresenta os teores de carotenoides, antocianinas, flavonóides, vitamina C e fenólicos totais presentes em resíduos de frutas, confirmando a presença de biocompostos, que podem agregar em novos produtos (FILHO & FRANCO, 2015).

| <b>Frutas<br/>(Resíduos)</b> | <b>Carotenoides<br/>(µg/100g)</b> | <b>Antocianinas<br/>(µg/100g)</b> | <b>Flavonóides<br/>(µg/100g)</b> | <b>Vitamina C<br/>(mg/100g)</b> | <b>Fenólicos Totais<br/>(mg/100g)</b> |
|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|
| <b>Goiaba</b>                | 644,9                             | 3,2                               | 1,06                             | 75,90                           | 24,63                                 |
| <b>Acerola</b>               | 881,56                            | 8,84                              | 1,04                             | 89,55                           | 247,62                                |
| <b>Graviola</b>              | 21,17                             | $8,66 \cdot 10^{-2}$              | 1,03                             | 64,35                           | 18,60                                 |
| <b>Bacuri</b>                | 222,80                            | $3,31 \cdot 10^{-3}$              | 0,95                             | 35,71                           | 8,57                                  |

**Tabela 3:** Teores de carotenoides, antocianinas, flavonoides, vitamina C e fenólicos totais presentes em resíduos de frutas (In: FILHO & FRANCO, 2015, p.1976).

Historicamente a enocianina é o extrato de antocianina mais antigo a ser utilizado, produzido a partir do bagaço de uva vermelha, resíduo este proveniente da fabricação de sucos e vinhos produzidos na Itália em 1879 (HANG, 1988).

Atualmente, o desenvolvimento de produtos que contribuem para a preservação da flora e da biodiversidade ganham destaques, pois leva em consideração a preocupação com o meio ambiente. Os subprodutos gerados a partir dos resíduos de polpa de fruta podem ser utilizados na indústria de cosméticos. A extração de extratos vegetais e óleos essenciais têm utilidade em diversas formulações na área cosmética, como óleos para banhos, máscaras capilares, condicionadores, cremes, loções, sabonetes, esfoliantes e desodorantes, apresentando maiores benefícios para a utilização dos extratos vegetais a hidratação, e as propriedades refrescantes e adstringentes que eles proporcionam (HOUSEHOLD & COSMÉTICOS, 2004).

## 5. EXTRATO GLICÓLICO

Os extratos glicólicos são obtidos por processos de percolação, infusão ou maceração de uma erva ou fruta em um solvente glicólico, podendo ser glicerina pura ou propilenoglicol. Os fito-cosméticos têm como o principal uso, os extratos glicólicos. O propilenoglicol, a rigor é o mais utilizado. Para que o extrato seja feito, o peso da amostra que pode ser frutas ou ervas, corresponde a uma relação de 1 para 5, 100g da amostra seca consegue preparar cerca de 600g de extrato glicólico bruto (MERCADANTE & ASSUMPÇÃO, 2010).

Observa-se atualmente uma crescente procura por cosméticos que utilizam extratos vegetais, esses extratos estão presentes principalmente em produtos de perfumaria e sabonetes. A adição de extratos glicólicos em produtos cosméticos está agregada aos benefícios que eles proporcionam. Seus componentes naturais apresentam inúmeras atividades clínicas, pois em sua composição encontram-se metabólitos secundários, como ácidos fenólicos, taninos, flavonóides e antocianinas. As atividades clínicas que podem proporcionar são fotoprotetora, antienvhecimento, anti-inflamatória e antioxidante (BALOGH, 2011).

O extrato glicólico de amora-preta possui algumas propriedades, como, ação refrescante, adstringente, hidratante, anti-inflamatória. A amora-preta possui alfa-hidroxiácidos como o ácido málico e o cítrico, salicilato de metila, tanino, pectina, antocianósido, açúcares, vitamina C e matéria mucilaginosa. Portanto, o armazenamento deve ser hermeticamente fechado, ao abrigo da luz e calor para não ocorrer degradação desses metabólitos (MASINI, 2014).

## 6. UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS PARA CONCEITUAÇÃO DO pH

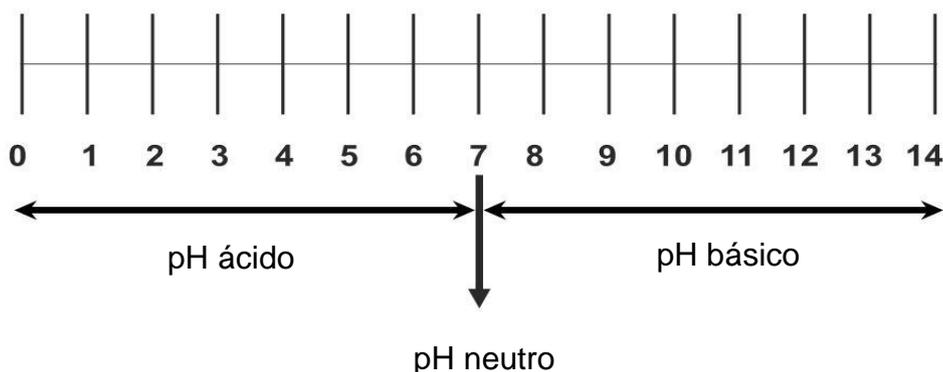
No Ensino Médio, o aluno deve adquirir compreensão dos processos químicos estudados, com relação as suas aplicações ambientais, sociais e tecnológicas, com intuito de tomar decisões críticas e responsáveis e emitir valores de juízo, em nível coletivo ou individual (CURRÍCULO DO ESTADO DE SÃO PAULO).

O processo de ensino e aprendizagem de Química praticado na maioria das escolas consiste onde os alunos estão com o papel de serem apenas receptores de informações e conhecimento, e o professor de passar esse conhecimento, onde em grande maioria o livro é utilizado como o principal material didático, surgindo o desinteresse dos alunos pelo conteúdo ensinado. O ensino de Química se caracteriza como maior desafio para os professores que tem interesse e desejam modificar e modelar a abordagem dos temas tradicionais. As atividades vinculadas à contextualização e à experimentação podem inovar e dinamizar a metodologia dos trabalhos e conteúdos ensinados em sala de aula, permitindo ao estudante um aprendizado eficaz e atraente, quebrando o tradicionalismo (VASCONCELOS et al., 2015).

Com base no tema desenvolvido pode-se abordar os indicadores de pH. Devido à coloração natural das espécies químicas contidas nos tecidos vegetais e as suas mudanças de coloração em função do pH, as principais vantagens sobre esse tema está relacionado em despertar o interesse dos estudantes para o conteúdo e a prática no ensino (COSTA et al., 2015).

O Potencial Hidrogeniônico (pH) consiste num índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer. As substâncias em geral, podem ser caracterizadas pelo seu valor de pH, sendo que este é determinado pela concentração de íons de Hidrogênio ( $H^+$ ). Quanto menor o pH de uma substância, maior a concentração de íons  $H^+$  e menor a concentração de íons  $OH^-$  (SOUZA, s.d.).

Conforme a Figura 10 os valores de pH variam de 0 a 14 e podem ser medidos através de um aparelho chamado pHmetro, mas podemos medir o pH de maneira menos precisa fazendo o uso de indicadores naturais (SOUZA, s.d.).



**Figura 10:** Escala de pH.

Indicadores são substâncias sintéticas ou naturais que possuem a capacidade de mudar de cor na presença de íons  $H^+$  e  $OH^-$  em uma solução, e por apresentarem esta propriedade são utilizadas para indicar o pH de diversas substâncias. Os indicadores mais utilizados são: papel de tornassol, solução de fenolftaleína indicador universal e indicadores naturais (SILVA, et al., s.d).

A utilização destes extratos naturais indicadores de pH pode ser explorada didaticamente, desde a etapa de obtenção até a caracterização visual e também espectrofotométrica devido as diferentes formas coloridas que aparecem em função das mudanças de pH do meio. Podem ser elaboradas atividades experimentais para o ensino de química no nível médio, visando a abordagem de temas envolvendo conceitos relacionados a equilíbrio químico e indicadores de pH. As perspectivas de trabalho pedagógico que podem ser desenvolvidas com a utilização destes extratos em atividades didáticas representam uma importante ferramenta para fortalecer o ensino de química, da prática com a teoria. Isto é muito desejável por favorecer o sucesso do processo de ensino e aprendizagem, auxiliando e facilitando o conteúdo ensinado pelo professor, principalmente quando o tema é a química (TERCI & ROSSI, 2002).

As antocianinas são responsáveis pela coloração de diversos frutos, flores e folhas, e apresentam diferentes cores a depender do pH do solo. São utilizados extratos de antocianinas como indicadores de pH e observa-se que estes apresentam coloração avermelhada em meio ácido, violeta em meio neutro e azul em meio alcalino (TERCI & ROSSI, 2002). O uso desses indicadores naturais em aulas do ensino médio pode despertar nos estudantes o interesse pelo conteúdo ensinado, promovendo a motivação,

bem como proporcionar situações de investigação e o melhoramento do processo ensino/aprendizagem (LUCAS et al., 2013).

## 6.1 PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1.1 Materiais

- Almofariz;
- Amora-preta;
- Etanol;
- Papel filtro;
- Pistilo;
- Soluções com pH de 1 a 14;
- Tubos de ensaio.

### 6.1.2 Metodologia

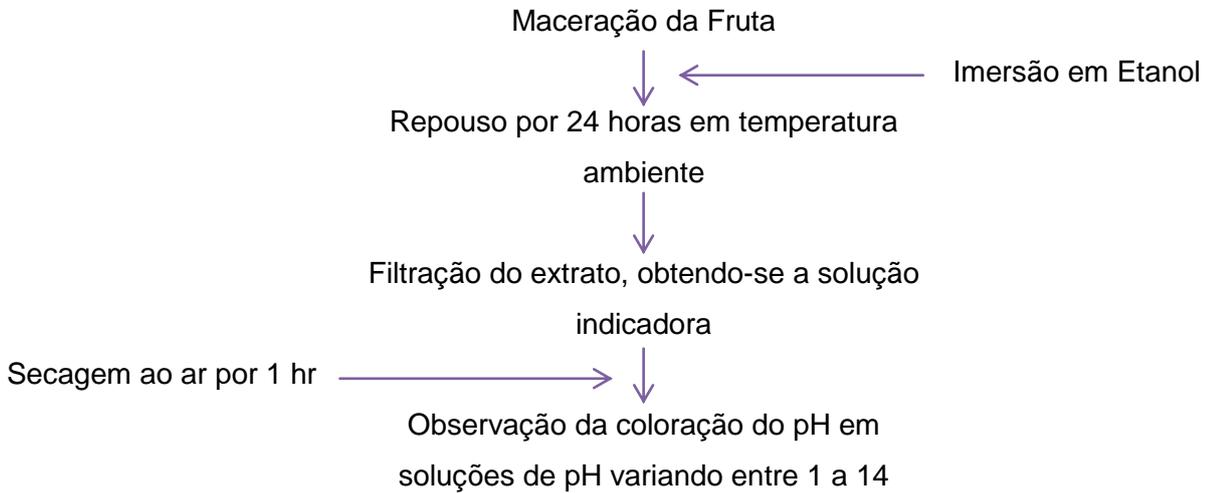
Será efetuada a metodologia de acordo com o método de Terzi & Rossi (2002), a obtenção do extrato de amora será realizada pela maceração da fruta seguida da imersão em etanol na proporção 1:3 (m/V) e repouso por 24 horas, à temperatura ambiente. Posteriormente, o extrato será filtrado, obtendo-se a solução indicadora de pH.

Durante a etapa de filtração, será observado que parte do extrato ficará impregnado no papel de filtro. Isto originará o estudo com papel indicador de pH.

Para o estudo de preparação de papel indicador de pH, procederá à imersão de tiras de papel de filtro qualitativo de 0,3 e 4,0 cm em cada um dos extratos. Em um período de aproximadamente 1 hora para secagem ao ar.

Para avaliar a adequação dos extratos como indicadores de pH, vão ser utilizadas soluções tampão com pHs variando de 1 a 14. Serão utilizados tubos de ensaio contendo 5 mL de solução tampão, aos quais serão adicionados 1 mL do extrato bruto de amora-preta. A observação da coloração resultante será feita 30 segundos após a adição dos

extratos. A avaliação dos papéis de filtro impregnados com o extrato será realizada pela observação da cor do papel resultante após a imersão das tiras nas soluções tampão. A Figura 11 descreve o fluxograma do método utilizado para preparação de papel indicador de pH natural.



**Figura 11:** Fluxograma do método para preparação de papel indicador de pH natural.

Será feita a determinação do pH de alguns produtos de uso doméstico, utilizando-se os indicadores desenvolvidos em papel e em solução. Os resultados obtidos serão comparados com medidas realizadas com indicadores comerciais de pH (fita indicadora universal de pH e papel indicador universal de pH).

## 7. MATERIAIS E MÉTODOS

### 7.1 MATERIAIS

- Almofariz;
- Balão volumétrico;
- Bastão de vidro;
- Béquer;
- Cubeta quartzo;
- Erlenmeyer;
- Funil de Buchner;
- Funil de vidro;
- Kitassato;
- Papel Alumínio;
- Papel filme;
- Papel filtro;
- Pipeta volumétrica;
- Pistilo;
- Proveta.

#### 7.1.1 Reagentes

- Propilenoglicol.
- Solução extratora: Álcool etílico 95% com água destilada na proporção 70:30 (v/v).
- Solução pH 1,0: KCl 0,2N e HCl 0,2N na proporção 25:67 (v/v).
- Solução pH 4,5: Acetato de Sódio 1N, HCl 1,5N e Água na proporção 100:60:90 (v/v).
- Solução pH Único: Álcool etílico 95% e HCl 1,5N na proporção 85:15 (v/v).

### 7.1.2 Equipamentos

- Balança analítica (RADWAG – WTB 3000);
- Banho-maria (TECNAL – TE 054);
- Bomba a vácuo (TE – 058);
- Centrifuga (TECNAL – CELM);
- Espectrofotômetro (FEMTO – Cirrus 80);
- Estufa (TECNAL – TE 397/4);
- Mixer (MONDIAL – M-08);
- pHmetro (TECNOPON – MODELO Mpa – 210).

## 7.2 MÉTODOS

### 7.2.1 Aquisição das amostras

Os frutos maduros, a polpa e o resíduo de amora-preta (*Rubus sp*) foram cedidos pela empresa RICAELI ALIMENTOS, situada em Cabreúva/SP, vindo acondicionados em embalagens de polietileno de alta densidade, como apresentado na Figura 12. Todas as amostras foram armazenadas em freezer a -10°C, protegidas de iluminação.

Antes das análises todas as amostras foram descongeladas e homogeneizadas.

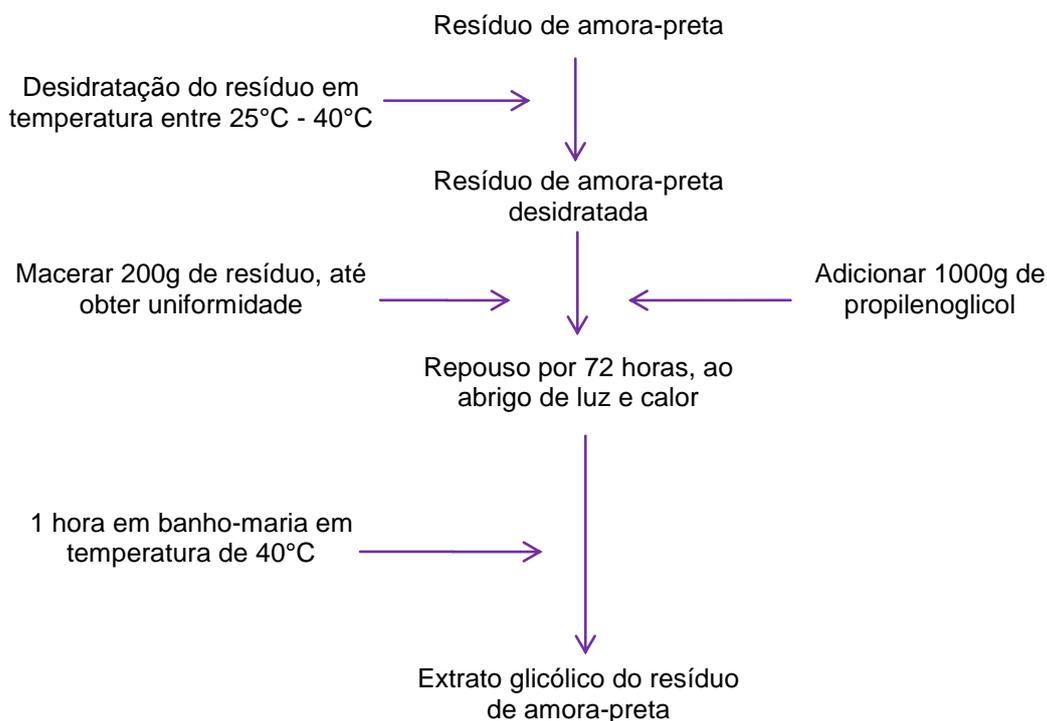


**Figura 12:** Polpa, frutos maduros e resíduo de amora-preta (*Rubus sp*) congelados.

### 7.2.2 Preparo do extrato glicólico do resíduo de amora-preta

O preparo do extrato glicólico do resíduo de amora-preta foi realizado de acordo com a metodologia de Mercadante & Assumpção (2010). Descrita pelo fluxograma apresentado na Figura 13.

O resíduo de amora-preta foi desidratado a uma temperatura entre 25°C e 40°C. Após esse procedimento, 200g da matéria-prima desidratada foi macerada até manter uniformidade. O resíduo macerado foi colocado em um recipiente de vidro branco recoberto por papel alumínio, onde este foi adicionado à mistura 1000g de propilenoglicol. Após esse procedimento a amostra ficou em repouso por 72 horas, em vidro fechado e ao abrigo de luz e calor. Após o tempo de espera, foi colocada a mistura em um béquer em banho-maria, aproximadamente por 1 hora a uma temperatura de aproximadamente 40°C. Já obtido o extrato glicólico, este foi armazenado em frasco escuro, fechado, protegido de luz e calor para dar continuidade às análises.



**Figura 13:** Fluxograma do método de preparo de extrato glicólico do resíduo de amora-preta.

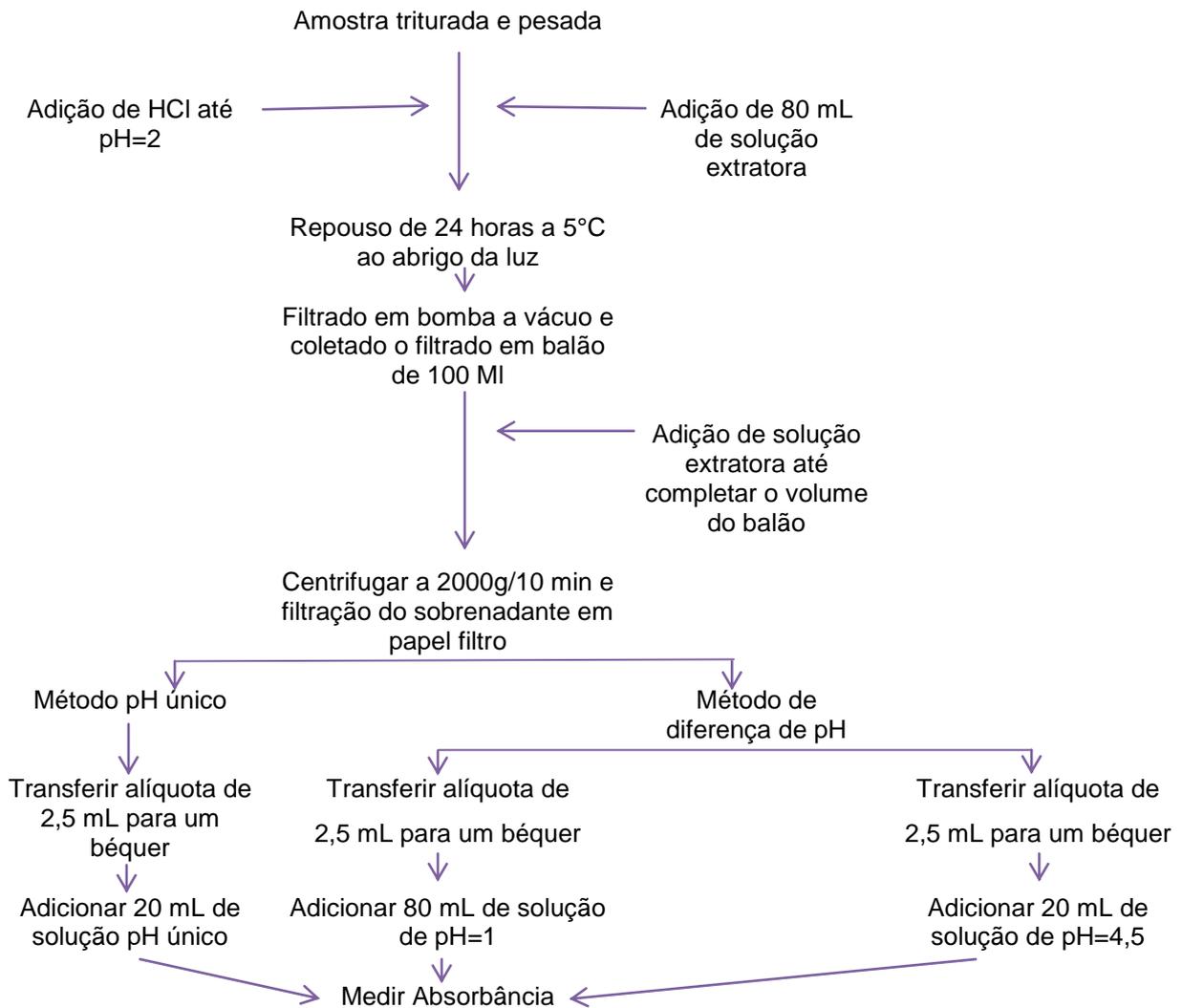
### 7.2.3 Preparo das amostras

O preparo das amostras de fruta, polpa, resíduo e extrato glicólico de amora-preta para a análise foi realizado conforme com o método de Teixeira; Stringheta; Oliveira (2008). As amostras foram homogeneizadas com auxílio de mixer, durante 5 minutos. Das quais, 30 g de cada foram transferidas para um béquer adicionando-se 80 mL de solução extratora e ajustado o pH em 2 com HCl 1,5N. Em seguida, foi passado papel filme e papel alumínio para ficar ao abrigo da luz, e logo após colocou-se em refrigeração a 5°C por 24 horas para extração da antocianina, e assim foi dada continuidade as análises.

### 7.2.4 Extração e quantificação das antocianinas

Foi efetuada a análise de antocianina de acordo com o método adaptado de Teixeira; Stringheta; Oliveira (2008), mediante extração com etanol acidificado com HCl, conforme descrito no fluxograma da Figura 14. Para o método de pH Diferencial, foram utilizadas

soluções tampão pH 1,0 e 4,5. Para leitura de absorbância foi utilizado o espectrofotômetro UV, no comprimento de onda de 535 nm. A diferença de absorbância observada espectrofotometricamente possibilitou, por diferença direta, estimar a fração real de antocianina presente nas amostras de pH Único como também de pH Diferencial.



**Figura 14:** Fluxograma do método de extração de antocianina (In: TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008, p. 300).

O método para pH Único consistiu-se da transferência quantitativa de uma alíquota (VALq) de 2,5 mL do Extrato Concentrado (100 mL de solução – amostra mais Solução Extratora), para um béquer de 100 mL e acrescentado 20 mL de solução Etanol 95% – HCl 1,5N (85/15), formando dessa maneira o Extrato Diluído (ED), no total de 22,5 mL. Para o método de pH diferencial consistiu-se da mesma forma do pH único, apenas o

extrato diluído do pH 1,0 foi no total de 82,5 mL (2,5 mL de alíquota do extrato concentrado mais 80 mL de solução KCl (0,2 N) e HCl (0,2N) na proporção 25:67). E para o pH 4,5 o extrato diluído foi no total de 22,5 mL (2,5 mL de alíquota extrato concentrado mais 20 mL de Acetato de Sódio (1N), HCl e Água na proporção 100:60:90). Os valores de absorvância (DO) foram contrastados com os valores dos brancos (Solução Etanol-HCl 1,5N na proporção de 85:15). Sendo o cálculo do teor de Antocianinas Totais (AntT) expresso em mg por 100 gramas da fração avaliada, onde foi efetuado de acordo com a eq. (1).

$$\text{AntT} = \frac{\frac{\text{DO} \times \text{VE1} \times \text{VE2} \times 100}{\text{Valq} \times \text{m} \times 982}}{\frac{E_{1\text{cm}}^{1\%}}{10}} = \frac{\text{DO} \times \text{VE1} \times \text{VE2} \times 1000}{\text{Valq} \times \text{m} \times E_{1\text{cm}}^{1\%}} \quad (1)$$

Onde,

DO: Densidade ótica do extrato diluído.

VE1: Volume total do extrato concentrado.

VE2: Volume total do extrato diluído.

Valq: Volume da alíquota utilizado na diluição do extrato concentrado.

m: Massa da amostra.

100: Fator de Correção para que resultado seja expresso em 100 gramas de Amostra.

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ : Coeficiente de Extinção.

10: Constante para correção do Coeficiente de Extinção de modo a expressar o resultado em mg de Antocianina / 100 gramas de Amostra.

O Coeficiente de Extinção foi o utilizado segundo a metodologia de Teixeira et al (2008), adotando para pH Único (pH 2,0) valor de 982 e para o método do pH Diferencial (pH 1,0) 873 e (pH 4,5) 775.

## 8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

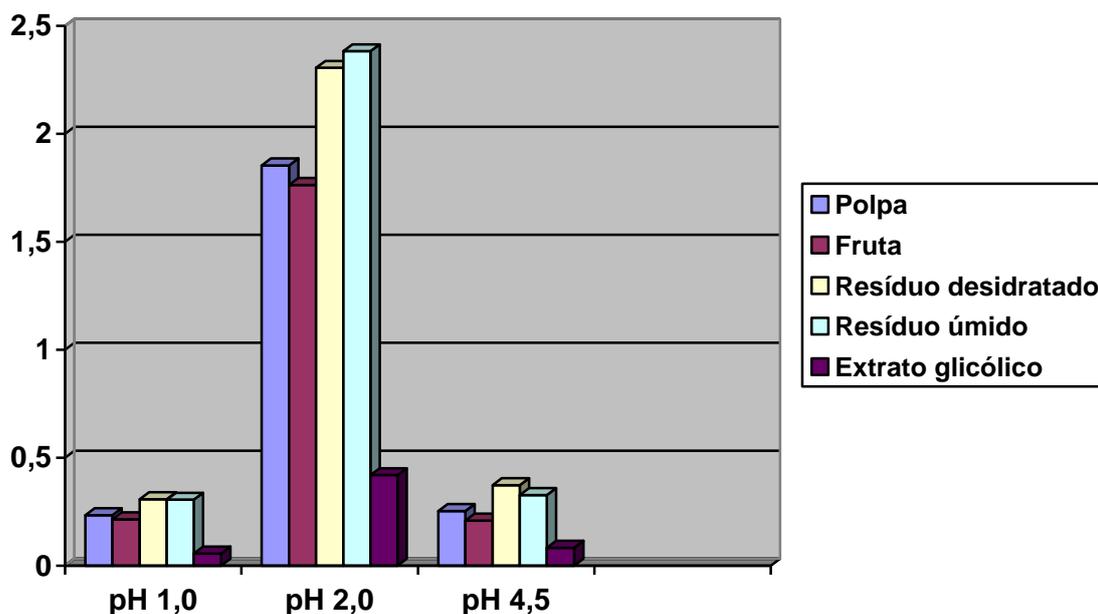
### 8.1 DETECÇÃO ESPECTROMÉTRICA

Após extração hidroalcoólica das antocianinas das amostras estudadas empregando metodologia citada anteriormente foi possível a quantificação de seus teores, através da leitura em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 535 nm. Para efeito de cálculo, foram feitas médias das absorvâncias das amostras utilizadas, sendo demonstradas na Tabela 4.

| <b>Amostra</b>             | <b>pH 1,0</b> | <b>pH Único (2,0)</b> | <b>pH 4,5</b> |
|----------------------------|---------------|-----------------------|---------------|
| <b>Polpa</b>               | 0,233         | 1,854                 | 0,252         |
| <b>Fruta</b>               | 0,214         | 1,763                 | 0,208         |
| <b>Resíduo desidratado</b> | 0,307         | 2,306                 | 0,372         |
| <b>Resíduo úmido</b>       | 0,305         | 2,383                 | 0,326         |
| <b>Extrato glicólico</b>   | 0,056         | 0,419                 | 0,082         |

**Tabela 4:** Médias das absorvâncias obtidas nas amostras.

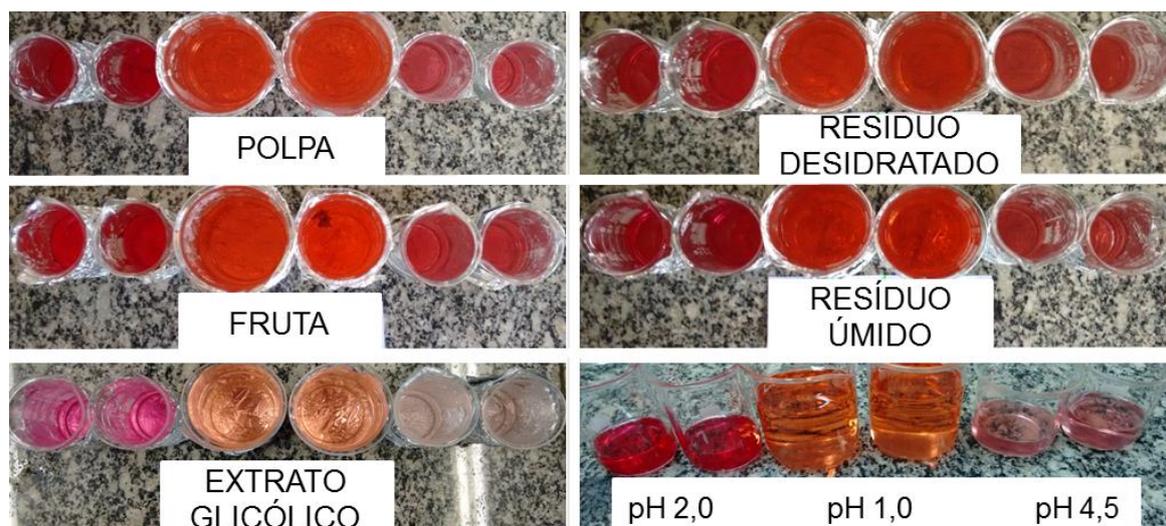
Para melhor visualização o gráfico apresentado pela Figura 15 mostra a comparação observada nos pHs (1,0 – 2,0 – 4,5) de acordo com médias das absorvâncias obtidas nas amostras estudadas.



**Figura 15:** Gráfico de comparação das absorvâncias em obtidas em pH 1,0, pH 2,0 e pH 4,5.

Para as amostras estudadas pode-se observar que as absorvâncias obtidas para o método de pH único (pH 2,0) apresentaram valores maiores quando comparadas ao método de pH diferencial (pH 1,0 e pH 4,5), sendo expresso assim que para pH único (pH 2,0) as amostras se apresentaram mais estáveis para a quantificação. Segundo Ferreira, (2013), em meio ácido as antocianinas apresentam coloração vermelha, onde estas se apresentam mais estáveis para possíveis quantificações e obtenção de resultados.

A Figura 16 mostra as colorações obtidas nas amostras, apresentadas na sequência de cores para os pHs (2,0 - 1,0 - 4,5) onde a coloração vermelha intensa obteve resultado em pH único (pH 2,0) na faixa de 535 nm tem o máximo de absorção. Segundo Março; Poppi; Scarminio, (2008), a coloração vermelha apresenta a estrutura do cátion flavilium onde se encontra no equilíbrio ácido-base de protonação desde cátion.



**Figura 16:** Sequência de coloração obtida nos pH 2,0, pH 1,0 e pH 4,5.

## 8.2 CONCENTRAÇÕES DE ANTOCIANINAS TOTAIS

Os valores das concentrações de antocianinas foram determinados através dos cálculos com as médias das absorbâncias obtidas de cada amostra, segundo a equação já apresentada, podendo ser analisadas na Tabela 5, que apresenta os resultados das concentrações de antocianinas totais em mg por 100 g de amostra.

| Amostra                    | pH 1,0        | pH Único (2,0) | pH 4,5        |
|----------------------------|---------------|----------------|---------------|
| <b>Polpa</b>               | 29,07 mg/100g | 55,96 mg/100g  | 9,68 mg/100g  |
| <b>Fruta</b>               | 26,80 mg/100g | 53,48 mg/100g  | 8,00 mg/100g  |
| <b>Resíduo desidratado</b> | 38,34 mg/100g | 70,00 mg/100g  | 14,27 mg/100g |
| <b>Resíduo úmido</b>       | 37,93 mg/100g | 71,86 mg/100g  | 12,46 mg/100g |
| <b>Extrato glicólico</b>   | 7,04 mg/100g  | 12,78 mg/100g  | 3,17 mg/100g  |

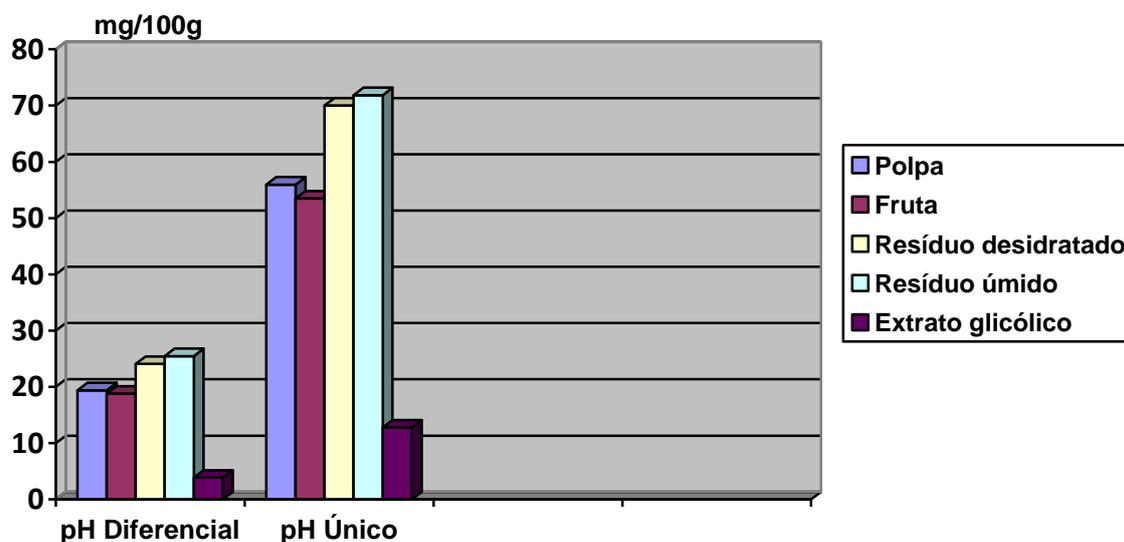
**Tabela 5:** Resultado da quantidade de antocianinas totais presente em cada amostra, em diferentes pHs, expressos em mg/100g.

Para obtenção dos resultados referente ao pH Diferencial e posterior comparação com o pH Único, foi necessário realizar uma subtração entre os resultados da quantidade de antocianinas obtidas em pH 1,0 e pH 4,5, conforme mostrado na Tabela 6.

| Amostra             | pH Diferencial (pH 1,0 – pH 4,5) | pH Único (pH 2,0) |
|---------------------|----------------------------------|-------------------|
| Polpa               | 19,39 mg/100g                    | 55,96 mg/100g     |
| Fruta               | 18,80 mg/100g                    | 53,48 mg/100g     |
| Resíduo desidratado | 24,07 mg/100g                    | 70,00 mg/100g     |
| Resíduo úmido       | 25,47 mg/100g                    | 71,86 mg/100g     |
| Extrato glicólico   | 3,87 mg/100g                     | 12,78 mg/100g     |

**Tabela 6:** Comparação do método de pH diferencial (pH 1,0 – pH 4,5) e pH único (pH 2,0) da quantidade de antocianinas totais presente em cada amostra, expressos em mg/100g.

O teor de antocianina total para cada amostra como apresentado no gráfico da Figura 17 alcançou valores significativos no método de pH único (pH 2,0) quando comparados ao método de pH diferencial (pH 1,0 – pH 4,5). Comprovando assim que o método de pH Único, mediante extração com etanol acidificado com HCl, foi a mais eficiente para extração das amostras.



**Figura 17:** Gráfico de comparação para o método de pH diferencial (pH 1,0 – pH 4,5) e pH único (pH 2,0).

Observou-se que entre todos os ensaios das amostras estudadas, o maior teor de antocianinas totais para pH único obtidos foram empregados aos resíduos de amora-preta, onde o resíduo úmido alcançou o melhor resultado (71,86 mg/100g) e logo em seguida o resíduo desidratado (70,00 mg/100g), mostrando assim que não houve interferência da umidade para a quantificação das antocianinas presentes em resíduo de amora-preta. Esse resultado indica que as antocianinas estão presentes nas cascas e sementes, portanto o aproveitamento do resíduo de amora-preta, que geralmente é tratado como resíduo industrial, é uma fonte potencial de antocianinas.

Já para as amostras de polpa e fruta os resultados obtidos foram, para polpa 55,96 mg/100g e fruta 53,48 mg/100g. Para o extrato glicólico do resíduo de amora-preta apresenta-se com concentração menor de antocianinas total, devido sua menor concentração de amora-preta para a elaboração do mesmo, tendo como o resultado expresso em 12,78 mg/100g, podendo assim ser avaliado com propriedades antioxidantes de antocianinas.

Silva et al., (2011) quantificou antocianinas presentes em casca e polpa de uvas tintas (*Vitis vinifera L*) destinadas à produção de vinhos da região de Petrolina em 2010, avaliando os teores em três variedades de uva: Alfrocheiro, Alicante Bouchet e Aragonez, as quais apresentaram respectivamente os valores para polpa de 15,78 mg/100g, 16,95 mg/100g e 9,43 mg/100g, valores estes próximos ao encontrado em extrato glicólico de resíduo de amora-preta. E os valores encontrados em casca de uva para as variedades estudadas foram de 159,72 mg/100g, 160,07 mg/100g e 146,20 mg/100g, apontando assim, que o conteúdo de antocianinas totais quantificados em casca de uvas tintas são expressivamente maiores que a polpa de mesma variedade. Podendo afirmar que os resíduos de amora-preta e as cascas de uva, podem ser utilizados como fonte de matéria-prima para extração de pigmentos naturais, antioxidantes e elaboração de produtos industriais.

Em estudo de Teixeira; Stringheta; Oliveira (2008), a casca de Berinjela (*Solanum melongena*) apresentou teor de antocianina próximo ao encontrado em fruta e polpa de amora-preta, com os valores de 64,06 mg/100g em pH único e para pH diferencial 56,75 mg/100g e inferior comparados aos resíduos de amora-preta, como apresentado na Tabela 7. Evidenciando que a presença de antocianinas está associada à casca de Berinjela e amora-preta.

| <b>Amostras</b>  | <b>pH único<br/>(mg/100g)</b> | <b>pH diferencial<br/>(mg/100g)</b> |
|--|-------------------------------|-------------------------------------|
| Casca Jaboticaba ( <i>Myrciaria jaboticaba</i> )               | 492,74                        | 641,01                              |
| Pétalas de hibisco ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> )           | 250, 97                       | 229,75                              |
| Casca e polpa de sabugueiro ( <i>Sambucus negra</i> )          | 218,14                        | 221,45                              |
| Inflorescência de capim-gordura ( <i>Mellins minutiflora</i> ) | 96,90                         | 99,16                               |
| <b>Resíduo de amora-preta úmido (<i>Rubus sp.</i>)</b>         | <b>71,86</b>                  | 25,47                               |
| <b>Resíduo de amora-preta desidratado (<i>Rubus sp.</i>)</b>   | <b>70,00</b>                  | 24,07                               |
| Cascas de berinjela ( <i>Solanum melongena</i> )               | 64,06                         | 56,75                               |
| <b>Polpa de amora-preta (<i>Rubus sp.</i>)</b>                 | <b>55,96</b>                  | 19,39                               |
| <b>Fruta de amora-preta (<i>Rubus sp.</i>)</b>                 | <b>53,48</b>                  | 18,80                               |
| Polpa de repolho roxo ( <i>Brassica oleraceae</i> )            | 24,36                         | 61,44                               |
| Morango ( <i>Fragaria ssp</i> )                                | 21,69                         | 20,98                               |
| Maria-pretinha ( <i>Solanum americanum</i> )                   | 21,63                         | 25,09                               |
| Açaí ( <i>Euterpe oleracea Martins</i> )                       | 21,23                         | 19,62                               |
| <b>Extrato glicólico de Amora-preta (<i>Rubus sp.</i>)</b>     | <b>12,78</b>                  | 3,87                                |
| Romã ( <i>Punica granatum</i> )                                | 12,67                         | 5,55                                |

**Tabela 7:** Comparação de 10 fontes potenciais de antocianinas encontrados por Teixeira; Stringheta; Oliveira (2008) com os resultados das análises.

Neste mesmo estudo avaliou teores de outras 9 fontes potenciais de antocianinas, que serão discutidos os valores correspondentes primeiro ao método de pH único e em seguida seus valores para o método de pH diferencial, seguindo a apresentação da Tabela 7 acima.

A casca Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) corresponde aos valores de 492,74 mg/100g e 641,01 mg/100g, sendo a fruta que obteve o melhor resultado comparado as demais amostras analisadas, em seguida pétalas de hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis*) apresentando 250, 97 mg/100g e 229,75 mg/100g, casca e polpa de sabugueiro (*Sambucus negra*) 218,14 mg/100g e 221,45 mg/100g e inflorescência de capim-gordura (*Mellins minutiflora*) com os valores de 96,90 mg/100g e 99,16 mg/100g. De acordo com os valores obtidos pelos autores, estas 4 fontes revelaram-se com valores maiores aos encontrados ao estudo feito com os componentes de amora-preta (*Rubus sp.*). Já para polpa de repolho roxo (*Brassica oleraceae*) 24,36 mg/100g e 61,44 mg/100g, morango

(*Fragaria ssp*) 21,69 mg/100g e 20,98 mg/100g, maria-pretinha (*Solanum americanum*) 21,63 mg/100g e 25,09 mg/100g, açai (*Euterpe oleracea Martins*) 21,23 mg/100g e 19,62 mg/100g, valores estes que encontram-se em menor quantidade de antocianinas totais quando confrontadas ao estudo de fruta, polpa, resíduos desidratado e úmido de amora-preta. Ainda comparando ao estudo efetivado por de Teixeira; Stringheta; Oliveira (2008), resultados obtidos para romã (*Punica granatum*) foram de 12,67 mg/100g e 5,55 mg/100g comprovando que o extrato glicólico elaborado por meio do resíduo de amora-preta com 12,78 mg/100g para pH único apresenta fontes de antocianinas semelhantes ao valor encontrado em romã.

Avaliando o estudo feito por Mallmann (2011), onde se avaliou o teor de antocianinas totais presente em casca de berinjela (*Solanum melongena*), obteve-se resultados entre 23,96 mg/100g e 36,70 mg/100g, estudo o qual foram feitos 17 ensaios, com as variáveis: volume de solvente (mL/g); número de extrações (min), obtendo os resultados citados anteriormente, onde Mallmann conclui que estas variáveis afetam de forma significativa a extração e o resultado. Para o resultado de 36,70 mg/100g de antocianinas em casca de berinjela, foram feitas 5 extrações com 6 mL solvente por grama de amostra avaliada durante o tempo de 13 minutos. Comprovando que o tempo utilizado para o estudo de amora-preta descritos na metodologia foi eficaz.

A avaliação dos teores de antocianinas totais na pesquisa de Ferreira, (2013), em fruta, polpa e produto processado de juçara (*Euterpe edulis martius*), obteve resultados para fruta em extrato aquoso de 42,22 mg/100g, fruta em extrato etanólico de 41,55 mg/100g, resultados estes que comparados a amora-preta apresentam teores inferiores de antocianinas na fruta. Já para produto processado de juçara respectivos dos anos de 2013 e 2012 os valores obtidos foram de 10,53 mg/100g e 0,875 mg/100g, encontrando-se em quantidades menores de antocianinas que o extrato glicólico do resíduo de amora-preta.

Ferreira (2014) extraiu e quantificou o teor de antocianinas presente em fruta e polpa de morango, onde obteve os resultados para pH único de 8,75 mg/100g em fruta e 5,13 mg/100g em polpa, já para pH diferencial 3,24 mg/100 g em fruta e 2,66 mg/100g em polpa de morango. Resultados estes que se apresentam menores quando comparados com todas as amostras de amora-preta estudadas.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos resultados obtidos, conclui-se que a extração de antocianinas foi maior no método de pH Único do que no método do pH Diferencial. Isto indica, que para amora-preta, o método do pH Único se mostrou mais eficiente, e que o pH 2 é o que apresenta a maior estabilização das moléculas.

Os valores de antocianinas encontrados na fruta, polpa, resíduo úmido e desidratado e no extrato glicólico se mostraram adequados quando comparados a outras fontes de antocianinas.

O teor de antocianinas totais encontrado nos resíduos de amora-preta, em pH único, são excelentes se comparados com fruta e polpa, indicando que os resíduos industriais são ótimos insumos para outros segmentos, como a indústria cosmética e que o extrato glicólico obtido no mesmo pH apresenta um ótimo valor, sabendo que as proporções do preparo foram 1 para 5 (resíduo/propilenoglicol) .

## 10. REFERÊNCIAS

BALOGH, Tatiana Santana. **Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo da estabilidade e potencial fotoprotetor**. 2011. 267p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

CARDOSO, Luciana Marques; LEITE, João Paulo Viana; PELUZIO, Maria do Carmo Gouveia. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Colomb. Cienc. Quím. Farm.** v.40, n.23, 2011, p.116-138.

COSTA, Vinicius C.; GRAMACHO, Reinaldo S; SANTOS, Antônio S.; AMORIM, Fábio Alan C. Aplicação do Extrato De Amêndoa de Cacau (*Theobroma Cacao. L*) como um Novo Indicador em Titulações Ácido-Base. **Resista Virtual de Química**. v.7, n.4, jul./ago., 2015, p.1496-1507.

### CURRÍCULO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Embrapa Clima Temperado Sistemas de Produção**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/>>. Acesso em: 12 jun. 2015.

FALCÃO, A.P. et al., Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.3, p.637-642, julho-setembro, 2007.

FAVARO, Martha Maria Andreotti. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes**. 2008. 105p. Dissertação (Mestrado) - Grupo de Pesquisas em Química Analítica e Educação – UNICAMP – Instituto de Química, 2008.

FERREIRA, Adriana Luiza. **Extração e quantificação de antocianina em fruta e polpa de morango**. 2014. 44p. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial) - Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA/Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA, São Paulo, Assis, 2014.

FERREIRA, Daniela Souza; ROSSO, Veridiana Vera De; MERCADANTE, Adriana Zerlotti. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus spp.*). **Rev. Bras. Frutic**, v. 32, n. 3, setembro, 2010, p. 664-674.

FERREIRA, Taís Inácio da Luz. **Quantificação de antocianinas no fruto, polpa e produto processado da juçara (*Euterpe edulis martius*)**. 2013. 65p. Trabalho de conclusão de curso - Departamento de engenharia mecânica - Universidade de Taubaté, São Paulo, Taubaté, 2013.

FILHO, W.B. do Nascimento; FRANCO, C.R. Avaliação do potencial dos resíduos produzidos através do processamento agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v.7, n.6, julho, 2015, p.1968-1987.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Os antioxidantes. **Revista-fi.com**, n.6, 2009.

GORINSTEIN, S. et al. Comparison of the contents of the main antioxidant compounds and the antioxidant activity of White grapefruit and his new hybrid. **LWT – Food Science and Technology**, Zurich, n.3, p.337-343, mai, 2004.

HANG, Y.D. Recovery of food ingredients from grape pomace. **Process Biochemistry**, Paris, n.1, p.2-4, fev. 1988.

HOUSEHOLD & COSMÉTICOS. Cosméticos ecologicamente corretos. **Revista – H&C – Household & Cosméticos**, n. 26, Jul/Ago, 2004.

JACQUES, Andressa Carolina. **Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. tupy**. 2009. 49p. Dissertação (Mestrado) – Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2009.

JACQUES, Andressa Carolina; ZAMBIAZI, Rui Carlos. **Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus spp.*)**. In: Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.32, n.1, 2011, p.245-260, jan./mar.

JASKI, Michele; LOTÉRIO, Naiara; SILVA, Danila da. **A ação de alguns antioxidantes no processo do envelhecimento cutâneo**. s.d. 16 p. Academia do Curso de Cosmetologia e Estética da Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI, Santa Catarina, Balneário Camboriú, s.d.

LAURINO, Paulo Mendes e Marcelo **Polpa de fruta – legislação**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2010, 13p.

LIMA, V.L.A.G. de, MÊLO, E. de a., LIMA, U. dos s.; LIMA, D.E. da S. Polpa Congelada de Acerola: Efeito da temperatura sobre os Teores de Antocianinas e Flavonóides Totais. **Revista Bras. Frutic.**, v.24, n.3, dez., 2002, p.669-670.

LUCAS, Mônica; CHIARELLO, Luana Marcele; SILVA, Arleide Rosa da; BARCELLOS, Ivonete Oliveira. Indicador natural como material instrucional para o ensino de química. **Experiências em Ensino de Ciências**. v.8, n.1, 2013, p.61-71.

MALLMANN, Luana Peixoto. **Extração de antocianinas a partir de casca de berinjela (*Solanum melongena*)**. 2011. 48p. Monografia – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MARÇO, Paulo Henrique; POPPI, Ronei Jesus; SCARMINIO, Ieda Spacino. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quím. Nova**. v.31, n.5, 2008, p.1218-1223.

MASINI, Gisele, Mix para renovação celular. **FRUIT ACID AHA Via Farma**. n° 2, Março, 2014, p. 1, 4.

MELO, Carolina, **Resíduos industriais de polpas de frutas e a reutilização em produtos cosméticos**. Escola Técnica SENAI Paulista – PERNAMBUCO. Disponível em: <<http://inovemaispr.com.br/desafios/Transformacao-de-Residuos-Industriais/Paginas/Residuos-industriais-de-polpas-de-frutas-na-reutilizacao-em-produtos-cosmeticos.aspx>>. Acesso em: 10 jun. 2016.

MERCADANTE, Ricardo; ASSUMPÇÃO, Lucilaine de, **Sabonetes prensados. Extratos glicólicos e outros aditivos**. 9. Ed. Projetos Gerart - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2010.

MORAES, Ingrid Vieira Machado de. Produção de Polpa de Fruta Congelada e Suco de Frutas. In: **DOSSIÊ TÉCNICO**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro REDETEC, Rio de Janeiro, 2006, 26 p.

OLIVEIRA, Ines Lucia de; SORATO, Maristela Aparecida; SCHEIN, Viviane Ap. Spinelli; GHISLANDI, Liz Regina. Caracterização fitoquímica de amora-preta variedade tupi. **Revista de divulgação científica. I Seminário Integrado de Pesquisa e Extensão Universitária** v.16, n. 2(A), s.d., p.512-518.

SANTOS, Alessandro Carvalho Alves dos; MARQUES, Monica Maria Pereira; SOARES, Ana Karine de Oliveira; FARIAS, Luciana Melo de; FERREIRA, Adriana Kelly Almeida; CARVALHO, Moisés Lopes. Potencial Antioxidante de antocianinas em fontes alimentares: revisão sistemática. **Revista Interdisciplinar**. v.7, n.3, p.149-156, jul/ago/set, 2014.

SILVA, B,M et al. Quince (*Cydonia oblongo* Miller) Fruit (Pulp, Peel, and Seed) and Jam: Antioxidant Activity. **Journal or Agricultural and Food Chemistry**, Washington, n. 15, p. 4705-4712, mar, 2004.

SILVA, Marcelo Santos da; ALVES, Ricardo Elesbão; SILVA, Silvanda de Melo; COELHO, Maria Auxiliadora de Lima. Quantificação de antocianinas totais determinadas na casca e na polpa de uvas tintas destinadas à produção de vinhos. In: III SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA – SPC, 2011, Brasil. **Anais do III Simpósio Brasileiro de pós-colheita – SPC**, 2011, p.0816-0819.

SILVA, Sheila; ROCHA, Elton; OLIVEIRA, Mayara; OLIVEIRA, Izabela. **Indicadores de pH naturais**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia. Disponível em: <<http://pibid-cepac.weebly.com/uploads/3/1/2/8/31286421/livreto.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2015.

SOUZA, Líria Alves De. **"Conceito de pH"**. Brasil Escola. Disponível em <<http://www.brasilecola.com/quimica/conceito-ph.htm>>. Acesso em: 07 set. 2015.

TEIXEIRA, Luciana Nascimento; STRINGHETA, Paulo César; OLIVEIRA, Fabiano Alves de. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v.55, n.4, jul./ago., 2008, p.297- 304.

TERCI, Daniela Brotto Lopes; ROSSI, Adriana Vitorino. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Quím. Nova**, v.25, n.4, jul., 2002, p.684-688.

TOBAL, Thaise Mariá; SILVA, Roberto da; BOSCOLO, Mauricio. **Aplicação de antocianinas do jambolão *Syzygium cumini* (L.) Skeels na conservação do suco de laranja.** In: SBQ – Sociedade Brasileira de Química, Departamento de química e ciências ambientais, Rio Preto, s.d.

VASCONCELOS, E.; PAIXAO, M.F.; LUCCHESI, A.; SANTOS, F.; MAGALHAES, J.P.; AMORIM, T.; JESUS, S. **Oficina sobre extrato de antocianinas: a importância do uso de indicadores naturais obtidos a partir de flores e folhas para a aprendizagem do tema acidez e basicidade no ensino médio.** In: Congresso Brasileiro de Química, 55, 2015. Goiania/Goiais, Brasil.

VIZZOTTO, Márcia. Propriedades funcionais das pequenas frutas. **Pequenas frutas: tecnologias de produção**, v. 33, n. 268, mai/jun, 2012, p. 84-88.

VIZZOTTO, Márcia; BIALVES, Tatiane Senna; ARAUJO, Vanessa Fernandes; KROLOW, Ana Cristina. **Compostos bioativos e atividade antioxidante em genótipos de amoreira-preta.** In: XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 12, 2012. Bento Gonçalves, Brasil.

VOLP, Ana Carolina Pinheiro; RENHE, Isis Rodrigues Toledo; BARRA, Kiriaque; STRINGUETA, Paulo César. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Ver. Bras. Nutr. Clin.** 2008, v. 23, n. 9, p. 141-149.