

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS
CÂMPUS INHUMAS

Coordenação de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos



**Extração de Antocianinas da Casca de Jaboticaba (*Myrciaria
jaboticaba* Berg.) assistida por Ultrassom**

Laylla Sthéfany da Silva Neves
Rodrigo Porfirio dos Santos

Inhumas, 2019.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS
CÂMPUS INHUMAS

Coordenação de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Laylla Sthéfany da Silva Neves
Rodrigo Porfirio dos Santos

**Extração de Antocianinas da Casca de Jaboticaba (*Myrciaria
jaboticaba* Berg.) assistida por Ultrassom**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
IFG-GO / Câmpus Inhumas como parte dos
requisitos necessários para obtenção do título de
Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa Esp. Bruna Melo Miranda

Co-Orientador: Prof. Dr. Flavio Thihara Rodrigues

Inhumas, fevereiro de 2019.

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)

N511 Neves, Laylla Sthéfany da Silva
Extração de antocianinas da casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg.) assistida por ultrassom [Manuscrito]. / Laylla Sthéfany da Silva Neves e Rodrigo Porfírio dos Santos. -- Inhumas, 2019.
43 f.: il.

Orientadora: Profa. Esp. Bruna Melo Miranda.
Monografia (Graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Câmpus Inhumas, Curso Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2019.
Bibliografia.

1. Compostos fenólicos - Jaboticaba. 2. Tecnologia de alimentos I. Santos, Rodrigo Porfírio dos. II. Título.

CDD 660.28443

Código 04.2019

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida de Castro,
CRB-1/2509.

Biblioteca Atena, Câmpus Inhumas
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás



INSTITUTO FEDERAL
Goiás

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAÇÃO NO REPOSITÓRIO DIGITAL DO IFG - ReDi IFG

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Digital (ReDi IFG), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IFG.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| ☐ Tese | ☐ Artigo Científico |
| ☐ Dissertação | ☐ Capítulo de Livro |
| ☐ Monografia – Especialização | ☐ Livro |
| ☒ TCC - Graduação | ☐ Trabalho Apresentado em Evento |
| ☐ Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Rodrigo Lofkins dos Santos e Laylla Stéphany da Silva Nunes
Matrícula: 20131030110130 e 20132030110118
Título do Trabalho: _____

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: ☒ Não ☐ Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no ReDi/IFG: ____/____/____

O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim ☒ Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☒ Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Lofkins _____ 18/02/19
Local Data

Rodrigo Lofkins dos Santos; Laylla Stéphany da Silva Nunes
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Laylla Sthéfany da Silva Neves

Rodrigo Porfirio dos Santos

EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS DA CASCA DE JABUTICABA (*MYRCIARIA JABOTICABA* BERG.) ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Monografia apresentada à banca examinadora da Coordenação de Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Câmpus Inhumas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

COMISSÃO EXAMINADORA

Bruna Melo Miranda

Profª Esp Bruna Melo Miranda
IFG - Câmpus Inhumas

Flavio Thihara Rodrigues

Prof. Dr. Flavio Thihara Rodrigues
IFG - Câmpus Inhumas

Rayssa Dias Batista

Rayssa Dias Batista
Universidade Federal de Goiás

Inhumas, 12, fevereiro, 2019>

Queremos dedicar este trabalho a Deus, pela força e coragem que nos sustentou nesta longa caminhada. Aos nossos pais, irmãos e familiares. Aos nossos companheiros de vida por sempre estarem ao nosso lado durante toda nossa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus por nos guiar em todos os momentos difíceis e em todas as vitórias alcançadas.

Aos familiares pelo amor, atenção, compreensão e auxílio dado ao longo de toda jornada e por estarem sempre ao nosso lado.

A nossa orientadora professora Esp. Bruna Melo Miranda, por ter aceitado nos orientar nessa jornada, por nos guiar na escolha do tema, elaboração da pesquisa, pela paciência e ensinamentos compartilhados.

Ao nosso co-orientador Dr. Flavio Thihara Rodrigues por todo apoio, sensibilidade, todas as correções e inúmeras lições durante todo o nosso processo de aprendizagem.

Aos professores Dr. Fernando de Sá e Dra. Elisângela Cardoso de Lima Borges por terem cedido o espaço e os equipamentos do laboratório de Energia e Meio Ambiente do IFG – Câmpus Inhumas, para realização de grande parte deste trabalho.

A engenheira de bioprocessos e biotecnologia, Rayssa Batista, que gentilmente aceitou o convite de compor a banca de defesa, contribuindo assim, para o enriquecimento deste trabalho.

Aos professores e amigos de curso, que estiveram conosco na realização desse sonho, por estarem ao nosso lado em todos os momentos bons, ruins e principalmente na lealdade.

Em especial, agradecemos à coordenadora do curso Dra. Pabline Rafaella Mello Bueno de Almeida, por toda ajuda, paciência e principalmente pelo auxílio em todos os momentos que recorremos.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás – Câmpus Inhumas pelo incentivo à pesquisa e oportunidade de formação.

A todos que participaram e contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“Vou reerguer o meu castelo
Ferro e martelo
Reconquistar o que eu perdi;
Eu sei que vão tentar me destruir
Mas vou me reconstruir
Vou ‘tá mais forte que antes...”

Intérprete – Iza

Composição - Marcelo Falcão / Pablo Bispo

RESUMO

A jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg.) é um fruto nativo da região centro sul do Brasil, que apresenta formato globuloso, e muito rica em minerais e antocianina. Apresenta tonalidades que vai desde o verde-claro até o preto-avermelhado com a polpa de cor esbranquiçada. As antocianinas possuem propriedades funcionais antioxidantes e funções biológicas, estas podem ser empregadas tanto na indústria alimentícia quanto na indústria farmacêutica. Este trabalho teve por objetivo a caracterização da casca de jabuticaba e extração de antocianina por ultrassom. O experimento foi conduzido em delineamento experimental fatorial 2^3 , sendo 2 níveis e 3 fatores de avaliação: tempo (1 e 2 h), concentração da solução de solvente etanol (1:5 e 1:10) e temperatura (20 e 40 °C) que foram realizados em dois métodos de extração, o método com solvente em banho-maria convencional e o método com solvente em banho ultrassônico. As análises físico-químicas realizadas da casca da jabuticaba foram de cinzas, umidade, sólidos solúveis, pH, lipídios, proteínas e carboidratos totais. O delineamento experimental foi realizado com o programa *Statistica* assim como a análise de superfície de respostas. Os resultados dos experimentos de extração foram tabulados e submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguida de comparação das médias pelo Teste de t *student* a 5 % de probabilidade com auxílio do programa SISVAR 5.6. Os resultados da análise proximal da casca de jabuticaba apresentaram diferenças quando comparados a outros autores, fato justificado pelo uso de espécies e métodos de preparado da amostra diferentes aos usados no presente trabalho. Na extração e quantificação do teor antocianinas, o método de extração convencional obteve valores maiores (371,49 a 766,03 mg. 100 g⁻¹) quando comparado a extração utilizando o banho ultrassônico (356,71 a 672,34 mg. 100 g⁻¹). Portanto, o emprego do ultrassom não acarretou maiores rendimentos de extração de antocianinas.

Palavras-chave: compostos fenólicos; tecnologias emergentes; flavonoides.

ABSTRACT

The jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg.) is a native fruit of the south central region of Brazil, it has a globulous shape and is rich in minerals and anthocyanin. It has shades ranging from light green to reddish-black with whitish-colored flesh. Anthocyanins have functional antioxidant properties and biological functions and can be used in both the food and pharmacy industries. The objective of this work was to characterize the jabuticaba's peel and to extract anthocyanin by ultrasound. The experiment was conducted in a 2-factorial experimental design with 2 levels and 3 evaluation factors: time (1 and 2 h), concentration of ethanol solvent solution (1: 5 and 1:10) and temperature (20 and 40 ° C) that was performed in two extraction methods, the solvent in a conventional water bath and the solvent in an ultrasonic bath. The physicochemical analyzes of jabuticaba's peel were ashes, moisture, soluble solids, pH, lipids, proteins and total carbohydrates. The experimental design was performed with the Statistica program as well as the surface analysis of responses. The results of the extraction experiments were tabulated and submitted to Analysis of Variance (ANOVA), followed by a comparison of the means by Student's test at 5 % probability using the SISVAR program 5.6. The results of the proximal analysis of jabuticaba's peel presented differences when compared to other authors, a fact justified by the use of species and preparation methods of the sample different from those used in the present study. In the extraction and quantification of the anthocyanin content, the conventional extraction method obtained higher values (371.49 to 766.03 mg. 100 g⁻¹) when compared to the extraction using the ultrasonic bath (356.71 to 672.34 mg. 100 g⁻¹). Therefore, the use of ultrasound did not lead to higher extraction of anthocyanins.

Keywords: phenolic compounds; emerging technologies; flavonoids.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Frutos de jabuticaba.....	16
Figura 2. Estrutura básica das antocianinas encontradas na natureza.....	18
Figura 3. Sanitização das jabuticabas com solução 200 mg/L.....	22
Figura 4. Cascas de jabuticabas.....	23
Figura 5. Béqueres lacrados para extração de antocianinas.....	27
Figura 6. Comparação entre fatores no método de extração convencional.....	34
Figura 7. Comparação entre fatores no método de extração com ultrassom.....	35
Figura 8. Superfície de resposta mostrando o efeito da temperatura, tempo e concentração na extração de antocianinas pelo método com solvente convencional. (A) interação temperatura e tempo, (B) interação concentração e tempo e (C) interação temperatura e concentração.....	36
Figura 9. Superfície de resposta mostrando o efeito da temperatura, tempo e concentração na extração de antocianinas pelo método com solvente com ultrassom (A) interação concentração e tempo, (B) interação temperatura e tempo e (C) interação temperatura e concentração.....	37

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Composição por 100 g de jabuticaba <i>in natura</i>	17
Tabela 2. Principais antocianinas encontradas na natureza.....	19
Tabela 3. Fatores e níveis decodificados usados no experimento de extração de antocianinas.....	25
Tabela 4. Resultados da análise proximal em comparação com a literatura.....	29
Tabela 5. Resultados das análises químicas de pH e sólidos solúveis.....	31
Tabela 6. Resultados das extrações do teor de antocianinas (mg.100 g ⁻¹) extraídas da casca de jabuticaba pelos métodos convencional e ultrassom.....	32
Tabela 7. Resultados das extrações expressos pelo teor de antocianinas (mg.100 g ⁻¹), comparado com valores encontrados na literatura.....	33

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

% - Por cento

[C+S] – Concentração casca + solvente

ANOVA – Análise de Variância

AOAC - Associação Oficial de Químicos Analíticos

CPA - Centro de Pesquisa em Alimentos

EAC - Extrato de antocianinas concentrado

g – Grama

IAL - Instituto Adolfo Lutz

IFG - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

kg – Quilograma

kHz – Quilo-Hertz

L – Litro

M – Mol

mg – Miligrama

nm – Nanômetro

°Brix – Grau Brix

°C – Grau Celsius

pH – Potencial hidrogeniônico

SS – Sólidos Solúveis

T – Temperatura

t – Tempo

UFG - Universidade Federal de Goiás

US – Ultrassom

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Jabuticaba.....	16
2.2	Antocianinas.....	18
2.3	Métodos de extração.....	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	Objetivos gerais	21
3.2	Objetivos específicos	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	Obtenção da amostra.....	22
4.2	Análises físico-químicas	23
4.2.1	Cinzas.....	23
4.2.2	Umidade.....	24
4.2.3	Sólidos solúveis.....	24
4.2.4	pH.....	24
4.2.5	Lipídios.....	24
4.2.6	Proteínas.....	24
4.2.7	Carboidratos totais.....	25
4.3	Extrações das antocianinas.....	25
4.3.1	Delineamento experimental das extrações.....	25
4.3.2	Extração das antocianinas.....	26
4.3.3	Quantificação da antocianina.....	26
4.5	Análise estatística.....	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	Análises químicas da matéria-prima.....	29
5.2	Extração das Antocianinas	31
5.2.1	Comparação entre fatores de extração	34
6	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

Originária do centro sul do país e conhecida há quase cinco séculos, a jabuticabeira (*Myrciaria* spp.) é uma espécie nativa do Brasil que pode ser encontrada em uma extensa faixa do país, onde geralmente é cultivada em pomares domésticos e pequenas plantações (PEREIRA, 2003; SATO; LOPES, 2007; SASSO, 2009).

A jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* Berg.) apresenta formato globuloso de até três centímetros de diâmetro com coloração preta-avermelhada podendo ter variação na tonalidade pela presença de antocianinas. A sua polpa é esbranquiçada, agridoce e apresenta entre uma e quatro sementes. Somando o peso total do fruto, casca e semente representam até 50 % (cinquenta por cento) do total do fruto (LIMA, 2009).

A jabuticaba é rica nutricionalmente, apresentando grandes quantidades de niacina e ferro, com a casca rica em antocianinas, fator responsável pelas colorações alaranjadas passando pelo vermelho, violeta e chegando até o azul escuro (PEREIRA, 2003; CAVALCANTI, 2013).

As antocianinas pertencem a uma grande família de agentes terapêuticos que atuam principalmente como antioxidantes e corantes, ao consumir esses alimentos estas propriedades auxiliam na prevenção contra auto oxidação e peroxidação de lipídios em sistemas biológicos (NARAYAN et al., 1999).

Grande parte da aplicação das antocianinas está ligada à sua ação colorífica, podendo ser usadas no preparo de alimentos (iogurtes, bebidas lácteas, sucos), cosméticos, tecidos e entre outros. Além da coloração, as antocianinas também são responsáveis pela proteção das plantas da ação da luz e têm funções biológicas (LOPES, 2007; CAVALCANTI, 2013).

Normalmente, as moléculas de antocianinas são compostas de duas ou três partes (uma antocianidina (aglicona), um açúcar e muitas vezes de um ácido de acilo) (LOPES, 2007) e devido aos grupos substituintes polares e glicosilas residuais ligados aos anéis aromáticos, essas moléculas são mais solúveis em água do que em solventes não-polares (HARBORNE; GRAYER; 1998).

A extração é um método utilizado para obtenção de diversos compostos entre eles os bioativos, nos quais se enquadram as antocianinas. Diversos fatores podem contribuir para uma melhor obtenção de compostos bioativos, como por exemplo, a composição química do material, tamanho das partículas, solvente a ser utilizado, tempo e temperatura de extração (ANDREO; JORGE, 2006).

As extrações de forma geral com solventes são as mais utilizadas, método que consiste na combinação do solvente com a junção de outros fatores como o aquecimento, por exemplo, o que facilita a transferência de massa entre os compostos presentes na matriz vegetal e o solvente, porém, altas temperaturas podem causar degradação de compostos termolábeis e possíveis reações com o material, prejudicando assim os resultados (BARBA et al., 2016).

Segundo Corrales e colaboradores (2008), a extração com solventes (métodos convencionais) são os mais utilizados para a extração de antocianinas, porém as tecnologias emergentes como a extração com líquido pressurizado, extração com fluido supercrítico, extração por pulso elétrico, extração assistida por micro-ondas e extração assistida por ultrassom, já vêm sendo utilizadas em pesquisas buscando processos com melhores características econômicas, ambientais, segurança e qualidade ao produto obtido.

A extração assistida por ultrassom foi estudada e pesquisada, Shirsath e colaboradores (2012), realizaram pesquisas sobre a intensificação de extração de compostos naturais e concluíram que o ultrassom pode melhorar a extração de compostos como antioxidantes, pigmentos e corantes naturais devido as taxas de transferência de massa e possíveis rupturas da parede celular causadas pela cavitação. O estudo demonstrou que com isso o processo leva a maiores rendimentos do produto com redução de tempo e de solventes.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Jabuticaba

A jabuticabeira apresenta porte médio com copas de formas variadas e folhas avermelhadas quando novas. A frutificação da espécie se dá nos ramos e troncos das árvores, sendo seu fruto arroxeado, possui casca, polpa adocicada e de baixa acidez. A jabuticaba apresenta entre três e quatro sementes que junto com a casca equivalem a 50 % do peso total do fruto (LIMA, 2009; JESUS et al., 2004; GARCIA, 2014).

Devido o fruto ser não climatério, ele pode ser colhido após seu amadurecimento, quando a casca apresenta uma coloração vermelho escura (Figura 1). A jabuticaba possui vida útil de cerca de três dias, após esse período começam a apresentar mudanças na sua textura e sabor (LIMA, 2009; JESUS et al. 2004).

Conhecido por grande parte da população brasileira, a jabuticabeira apresenta produção média de 45 kg de fruto e tem o valor comercial relativamente baixo. Além disso, devido o curto prazo de vida útil há uma dificuldade na sua comercialização *in natura*, com isso, a sua industrialização é uma das melhores formas de minimizar sua perda (LIMA, 2009; SATO; LOPES, 2007).



Figura 1- Frutos de jabuticaba.
Fonte: Arquivo Pessoal.

Rica nutricionalmente, a jabuticaba apresenta em sua composição (Tabela 1), uma gama de compostos como carboidratos, fibras, sais minerais (cálcio e fósforo). A maioria desses compostos estão presentes na casca da fruta, o que permite uma grande variedade de estudos e trabalhos acerca do assunto (GARCIA, 2014).

Tabela 1 - Composição por 100 g de jabuticaba *in natura*

Componentes	Teor
Umidade	83,60 %
Energia	58,00 Kcal
Proteína	0,60 g
Lipídios	0,10 g
Carboidrato	15,3 g
Fibra Alimentar	2,30 g
Cinzas	0,40 g
Cálcio	8,00 mg
Ferro	0,10 mg
Fósforo	15,00 mg
Potássio	130,00 mg
Vitamina C	16,20 mg

Fonte: LIMA et al., 2011.

Além dos compostos citados na tabela acima, a jabuticaba é rica em compostos fenólicos, como as antocianinas que estão presentes em grandes quantidades em sua composição. O que foi confirmado pela pesquisa realizada por Terceiro (2004) no qual encontrou teores de 310 a 315 mg de antocianinas por 100 g do fruto. Reynertson (2007) ao analisar a jabuticaba inteira e desidratada encontrou cerca de 433 mg.100 g⁻¹ para a cianidina-3-glicosídeo e 81 mg.100 g⁻¹ para a delphinidina-3-glicosídeo, sendo que, ambas são tipos de antocianinas encontradas na natureza.

2.2. Antocianinas

As antocianinas pertencem a classe dos flavonoides, e são pigmentos encontrados em abundância na natureza, sendo responsáveis pelas cores azuis, violetas e de todas as tonalidades de vermelho encontrados em flores, frutos, folhas e entre outros (MALACRIDA; MOTA, 2005).

As antocianinas são moléculas mais polares devido a presença de grupos hidroxilas, carboxilas, metoxilas e glicosilas residuais ligadas aos seus anéis aromáticos, devido a estes grupos presentes na molécula as mesmas são mais solúveis em água do que em solventes não-polares, fatores que auxiliam e facilitam a extração e separação de antocianinas (XAVIER, 2004).

A estrutura básica das antocianinas é composta por uma estrutura policíclica de quinze carbonos constituída por três anéis aromáticos, que possuem a capacidade de formar ligações tipo éster entre açúcares e ácidos orgânicos, sendo assim chamadas de antocianinas aciladas. Os diferentes grupos ligados em R, assim como os ácidos ligados a eles, caracterizam as diferentes moléculas de antocianinas (Figura 2) (LOPES, 2007).

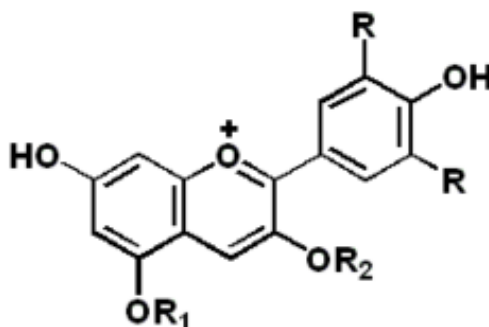


Figura 2 - Estrutura básica das antocianinas.
Fonte: LOPES, 2007

As antocianinas pertencem a uma grande família de agentes terapêuticos atuando como antioxidantes, que são capazes de inibir a oxidação de outras moléculas e podem ser facilmente encontrados na natureza. Com variações na estrutura base da molécula de antocianinas, pode-se encontrar compostos com características diferentes (Tabela 2), presentes em flores, frutos, hortaliças entre outros (NARAYAN et al., 1999).

Na indústria alimentícia o corante tem como principal função a melhoria de aspectos visuais como a cor e aparência nos alimentos, influenciando diretamente na escolha do consumidor e na sua percepção de qualidade na preferência por certos produtos (FAVARRO, 2008).

Tabela 2 - Principais antocianinas encontradas na natureza

Aglicona		Substituição Glicosídica (Substituição nas posições 3 E 5)		Acilação (Esterificação Das Hidroxilas Do Açúcar)
R1	R2			
H	H	Pelargoidina	D- glicose	Ácidos cinâmicos
OH	H	Cianidina	D- galactose	<i>p</i> - cumárico
OH	OH	Delfinidina	D- xilose	ferúlico
OCH3	H	Peonidina	L- ramnose	caféico
OCH3	OH	Petunidina	L- arabinose	
OCH3	OCH3	Malvinidina	Rutinose	ácidos alifáticos
			Soforose	acético
			Sambubiose	malônico
			Gentiobiose	succínico

Fonte: CAVALCANTI, 2013

Para a coloração de alimentos industrializados são utilizados corantes artificiais e naturais, porém, há alguns anos a ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária) começou a proibir certos tipos de corantes sintéticos como o vermelho sólido, escarlate GN e o azul alizarina devido a sua toxicidade (CAVALCANTI, 2013; FAVARRO, 2008').

Com o início dessa proibição, aumentaram as buscas para substituição dos corantes sintéticos por corantes naturais. No entanto, ainda são necessários estudos que viabilizem técnicas, formas de extração e principalmente de estabilização desses corantes. Uma alternativa viável é a extração de antocianinas, pois estas podem fornecer uma gama de cores, além de serem um composto natural que pode ser encontrado em diversas matrizes vegetais, como jabuticabas, casca de berinjela, beterraba, uva, repolho roxo, açaí entre outros (SILVA et al., 2010).

2.3 Métodos de extração

Os compostos fenólicos antioxidantes estão localizados nas matrizes vegetais em pequenas quantidades. Sua extração tem por objetivos a liberação de tais compostos, resultando em extratos com alta atividade antioxidante. Devido a sua sensibilidade a luz, temperatura e pH, o método de extração é de suma importância, pois o mesmo é considerado um dos fatores determinantes no rendimento final do extrato (SANTOS, 2013).

Sendo assim, a extração é um importante método para separação, isolamento, quantificação e utilização desses compostos (IGNAT; VOLF; POPA, 2011). A variedade de métodos voltados para extração de compostos bioativos é ampla, tanto para métodos convencionais (extração por Soxhlet, extração hidro alcoólica e solventes em geral) como para aqueles que utilizam as tecnologias emergentes (extração em contracorrente, por ultrassom, assistida por micro-ondas, solvente pressurizado e extração supercrítica). A escolha do método deve ser pautada na viabilidade econômica e adequabilidade a cada situação (HANDA et al., 2008; VIERA et al. 2016).

O princípio da extração assistida por ultrassom, consiste na atuação de ondas mecânicas de baixa frequência, formando assim cavidades, onde os gases dissolvidos deslocam-se, formando-se microbolhas que aumentam e diminuem até que elas implodam, liberando calor e pressão próximos a implosão. O ultrassom facilita a extração de elementos, sedimenta o material particulado e ocorre a ruptura das células vegetais. As vantagens dessa operação é a simplicidade, baixo custo, eficiência, pouco período para preparo das amostras e a ausência de altas temperaturas e pressão (CAVALHEIRO, 2013).

Os fatores que caracterizam as ondas de ultrassom são a velocidade, comprimento de onda, frequência, amplitude e intensidade. Para sólidos e líquidos, a velocidade de propagação está ligada com a densidade e elasticidade de uma base sólida ou líquida (FAUSTINO, 2013).

Em relação à eficiência do ultrassom quando comparado a outros métodos tradicionais de extração, a redução de tempo é um grande fator positivo. A cavitação formada pelo mesmo permite uma maior ruptura da parede celular e maior penetração do solvente, permitindo assim uma maior liberação de compostos, além de reduzir consumo de solvente orgânico e energia (COTTA et al., 2009).

Pesquisas já utilizaram a extração assistida por ultrassom como método para extração de compostos bioativos, Mazza e colaboradores (2016), por exemplo, analisaramo bagaço da uva Syrah utilizando o método assistido por ultrassom.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

O objetivo do presente trabalho foi realizar a caracterização da casca de jabuticaba e analisar o efeito do ultrassom na extração de antocianinas.

3.2 Objetivos Específicos

- Análise proximal como: teores de cinza, umidade, lipídios, proteína e carboidratos;
- Análise do teor de sólidos solúveis e pH da casca da jabuticaba;
- Extração de antocianinas pelo método de extração com solvente e assistido por ultrassom;
- Avaliação dos melhores parâmetros de extração (tempo, temperatura e concentração);
- Comparação de rendimento dos métodos de extração (ultrassom x convencional).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás – Câmpus Inhumas, nos Laboratórios de Frutas e Hortalças, Energia e Meio Ambiente, Físico-Química e Bromatologia. As análises proximais da casca foram realizadas em parceria com o Centro de Pesquisa (CPA) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e executados de acordo com as metodologias descritas por IAL, 2005.

4.1 Obtenção da amostra

As jabuticabas (*Myrciaria jaboticaba* Berg.) foram adquiridas na zona rural do município de Inhumas – GO, coletadas no período matutino, transportadas para o laboratório de Frutas e Hortalças e armazenadas sob refrigeração por 24 horas.

Iniciando o processo de preparo das amostras, as jabuticabas foram higienizadas e sanitizadas em solução de hipoclorito de sódio a 200 mg/L em recipientes apropriados com capacidade volumétrica de 11 L, a sanitização ocorreu utilizando três quilogramas de jabuticaba sendo completado com a solução até a margem de 10 L, onde permaneceu por 20 minutos (Figura 3). Logo após a sanitização deu-se início ao processo de despulpamento.



Figura 3 - Sanitização das jabuticabas com solução 200 mg/L.
Fonte: Arquivo Pessoal.

Após o despulpamento as cascas de jabuticabas foram acondicionadas em embalagens de polietileno, contendo 0,265 kg de amostra em cada (Figura 4), e posteriormente lacradas com seladora, totalizando 4,5 kg de amostras de cascas.

As amostras foram mantidas congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises. Posteriormente, as cascas foram descongeladas lentamente e trituradas a fim de apresentarem uma maior superfície de contato, para maior interação do solvente com a amostra.



Figura 4 - Cascas de jabuticabas.
Fonte: Arquivo Pessoal.

4.2 Análises físico-químicas

4.2.1 Cinzas

Para análise de cinzas, 3 g da amostra foram adicionadas em cadinhos com capacidade de 30 mL e em seguida levadas a mufla (FORNITEC - IND. E COM. LTDA, Modelo de 2006), a temperatura foi aumentada de 50 em $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $550\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde a amostra ficou por 5 horas. Após esse período as cinzas foram levadas ao dessecador com sílica para que não houvesse absorção de água pela amostra e atingisse temperatura ambiente até o momento de pesagem. Em seguida, pesou a amostra em balança analítica e sua massa final anotada (IAL, 2005).

4.2.2 Umidade

Na verificação de umidade foram utilizadas 3 g de amostra acondicionadas, em cadinhos com capacidade de 30 mL e posteriormente levadas a estufa (Estufa de Esterilização e Secagem Thoth, Modelo - 500-50) a temperatura de 105 °C por 16 horas, em seguida as amostras foram levadas ao dessecador e sua massa final anotada (IAL, 2005).

4.2.3 Sólidos Solúveis

Para observar os sólidos solúveis 5 g da amostra foram diluídos em um béquer de 50 mL com água destilada. Posteriormente a leitura foi efetuada em refratômetro (BEL, Modelo RFC, 1 – 32 °Brix) e os dados obtidos anotados para tabulação (IAL, 2005).

4.2.4 pH

O ensaio de pH foi realizado com auxílio de um pHmetro de bancada (ADWA, Modelo AD11 & AD12) 5 g da amostra foram diluídas em um béquer de 50 mL com água destilada e homogeneizada com bastão de vidro. Posteriormente a leitura foi realizada (IAL, 2005).

4.2.5 Lipídios

As análises de lipídios foram realizadas em parceria com o CPA, que seguiu o método de Soxhlet em triplicatas de acordo com a metodologia descrita por IAL, 2005.

4.2.6 Proteínas

A análise de proteína foi realizada seguindo o método de Kjeldhal em triplicata, posteriormente o resultado foi convertido de acordo com o fator de correção do IAL, 2005. A análise foi realizada em parceria com o CPA.

4.2.6 Carboidratos totais

O teor de carboidrato foi calculado pelo método por diferença, subtraindo-se de cem os valores de cinzas, proteínas, lipídios e umidade como descrito por AOAC (2010).

4.3. Extrações das antocianinas

4.3.1. Delineamento experimental das extrações

O planejamento das extrações de antocianinas foi realizado com um delineamento experimental fatorial 2^3 (programa *Statistica*) com dois níveis e três fatores (Tabela 3), sendo eles tempo (1 e 2 horas), temperatura (20 e 40 °C) e concentração de solvente (1:5 e 1:10), que foram utilizados em dois métodos de extração, o método convencional e o banho ultrassônico. No experimento foi utilizado como solvente extrator, o etanol 99 % acidificado com ácido clorídrico.

Tabela 3 - Fatores e níveis decodificados usados no experimento de extração de antocianinas.

Tratamento	Tempo (horas)	Concentração (g/mL)	Temperatura (°C)
1	1 (- 1)	1:5 (- 1)	20 (- 1)
2	2 (+1)	1:5 (- 1)	20 (- 1)
3	1 (- 1)	1:10 (+1)	20 (- 1)
4	2 (+1)	1:10 (+1)	20 (- 1)
5	1 (- 1)	1:5 (- 1)	40 (+1)
6	2 (+1)	1:5 (- 1)	40 (+1)
7	1 (- 1)	1:10 (+1)	40 (+1)
8	2 (+1)	1:10 (+1)	40 (+1)

De acordo com o delineamento proposto, os experimentos foram realizados em ordem aleatória e em triplicata, sendo que a resposta do experimento foi a quantidade de antocianinas extraídas em mg.100 g^{-1} .

4.3.2. Extração de antocianinas

Durante a extração foram utilizados dois métodos, que apresentou como diferença entre eles o equipamento utilizado na extração. Na extração com solvente convencional foi utilizado o banho maria e na extração com solvente assistida por ultrassom foi utilizado o equipamento de banho ultrassônico.

Para extração e quantificação das antocianinas foi necessário a elaboração de 3 (três) soluções, etanol acidificado (pH 4), tampão com pH 1 (0,025 M de cloreto de potássio) e tampão pH 4,5 (0,4 M de acetato de sódio), seguindo metodologia proposta por Montes e colaboradores (2005) com algumas alterações

O preparo do etanol acidificado foi realizado utilizando etanol 99 % e ácido clorídrico (HCl). Com auxílio de uma pipeta, pHmetro e bastão de vidro, a solução de etanol foi acidificada com HCl até atingir pH 4,0.

4.3.3. Quantificação da antocianina

A quantidade total de antocianinas foi determinada por espectrofotometria, seguindo o método do pH diferencial descrito por Giusti e Wrolstad (2001).

Na obtenção do extrato, 1g de casca de jabuticaba previamente triturada foi adicionada em um béquer coberto com folha de papel alumínio (Figura 5) para proteção da amostra devido a sensibilidade da mesma. A solução de etano (pH 4) foi adicionada nas proporções de 1:5 e 1:10 (g casca / mL de solução) e submetidas aos banhos para a extração, banho maria (Solab – Modelo: SL – 175) a 40 °C durante 1 e 2 horas e banho ultrassônico (Unique – Modelo: USC – 1400A) na frequência (US) de 40 kHz, a 20 e 40 °C, de acordo com o delineamento proposto.



Figura 5 - Béqueres lacrados para extração de antocianinas.
Fonte: Arquivo Pessoal

Ao final da extração (1 ou 2 horas), foram coletados 0,5 mL dos extratos com auxílio de pipeta volumétrica e diluídos em 3 mL de cada solução tampão, em béqueres separados.

Posteriormente, os dois extratos diluídos foram submetidos às leituras em espectrofotômetro (BEL Equipamentos, Modelo UV – M5,1) nos comprimentos de onda de 520 e 700 nm. As concentrações de antocianina foram calculadas utilizando as Equações 1 e 2 (AOAC 2010).

Inicialmente foi calculado o valor de A (Equação 1). Os valores encontrados nos comprimentos de ondas 520 e 720 nm, para as duas diluições, tanto no tampão pH 1, quanto no tampão pH 4, foram substituídos na Equação 1.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (1)$$

Após encontrado o valor de A foi calculado a quantidade do pigmento de antocianina presente na amostra com a Equação 2.

$$\text{Pigmento antocianina (mgC3G/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (2)$$

Sendo, MW o peso molecular do pigmento cianeto-3-glucósido (449,2 g.mol⁻¹); DF é o fator de diluição; ϵ é a absorção molar de cianidina-3-glucósido (26900 L.mol⁻¹cm⁻¹) e l é comprimento da cubeta (1 cm).

4.5 Análise estatística

O delineamento experimental foi realizado no programa *Statistica* (*Statistica 6,0; Stat Soft Inc., Tulsa, OK, EUA*), assim como a análise das respostas. Os resultados dos experimentos de extração foram tabulados e submetidos à Análise de Variância. As médias foram comparadas pelo Teste de *t student* a 5 % de probabilidade com auxílio do programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2008).

5. RESULTADOS E DICUSSÕES

5.1 Análises físico-químicas da matéria-prima

Os resultados encontrados para análise proximal estão descritos na Tabela 4, juntamente com os resultados encontrados na literatura.

O pesquisador Lima (2008) utilizou duas espécies de jabuticabas e analisou todas as suas frações (casca, polpa e fruto inteiro). Cavalcanti (2013) analisou resíduos da produção de geleia, sendo a espécie analisada pelo autor a variedade Paulista. Lima e colaboradores (2011) analisaram o fruto por inteiro, não separando suas frações. Sato e Lopes (2007) e Faria e colaboradores (2016) analisaram a variedade Sabará.

Tabela 4 - Resultados da análise proximal ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) em comparação com a literatura

Análises	Média	Autores				
		Lima (2008)	Cavalcanti (2013)	Lima (2011)	Faria et al. (2016)	Sato e Lopes (2007)
Cinzas*	$0,71 \pm 0,01$	4,39	0,48	0,40	0,03	0,34
Umidade*	$83,17 \pm 0,01$	84,24	82,00	83,30	85,36	85,51
Lipídios	0,23	0,57	0,22	0,10	0,67	0,14
Proteínas	2,13	1,16	2,00	0,60	8,00	0,33
Carboidrato	13,80	-	6,00	15,30	4,45	11,80

*Valores expressos por meio de média $\pm$ desvio padrão.

O valor experimental para cinzas difere do descrito por Lima e colaboradores (2011) que encontrou ($0,40 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), tal variação pode ser justificada pelo fato de ter sido usado apenas a fruta inteira, já o presente trabalho analisou apenas a casca. O valor encontrado por Cavalcanti (2013), é similar ao descrito pelos cientistas anteriores ($0,48 \text{ g} / 100 \text{ g}^{-1}$), o que justificaria essa variação seria o processo utilizado no preparo da amostra para realização da análise. Lima (2008) encontrou valores significativamente maiores ($4,39 \text{ g} / 100 \text{ g}^{-1}$) que todos os autores citados.

Ao comparar a composição proximal da casca da jabuticaba com a literatura percebeu-se, que Lima (2008) encontrou valores similares referentes a umidade para a casca da jabuticaba Sabará (84,24 %). Valores semelhantes também foram encontrados por Cavalcanti

(2013) ao analisar resíduos de jabuticaba na produção de geleia (82 %) e valores parecidos também foram observados por Lima e colaboradores (2011) ao analisar o fruto (83,3 %).

Os resultados da análise de lipídios se mostraram maiores ao serem comparados com o valor encontrado por Lima e colaboradores (2011) ($0,10 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Ao ser analisado os resultados encontrados por Lima (2008), observou-se uma maior quantidade de lipídios ($0,57 \text{ g} / 100 \text{ g}^{-1}$) que o valor encontrado no presente trabalho e valores menores aos encontrados por Sato e Lopes (2007) ($0,14 \text{ g} / 100 \text{ g}^{-1}$).

Os valores de proteína encontrados na casca de jabuticaba se mostraram mais altos em referência ao encontrado por Lima e colaboradores (2011), ($0,60 \text{ g} / 100 \text{ g}^{-1}$); e o dobro ao ser comparado por Lima (2008) ao analisar a casca de diferentes espécies de jabuticaba ($1,16 \text{ g} / 100 \text{ g}^{-1}$).

Em relação ao valor encontrado para carboidratos, se mostrou menor quando comparado ao valor encontrado por Faria et al. (2016), ($4,45 \text{ g} / 100 \text{ g}^{-1}$) para cascas de jabuticaba *in natura*, se aproximando do valor de carboidratos para o fruto inteiro por Lima e colaboradores (2011), ($15,3 \text{ g} / 100 \text{ g}$).

Como os compostos bioativos de natureza antioxidante, presente na jabuticaba se mostram ligados aos açúcares, isto pode explicar a grande quantidade de carboidratos presentes, em maiores teores na polpa, seguidos pelo fruto inteiro, semente e por último a casca. (LIMA et al., 2011).

Os valores da análise proximal observados no presente trabalho, quando comparados aos pesquisadores citados acima (LIMA, 2008; CAVALCANTI, 2013; LIMA et al., 2011; FARIA et al., 2016 e SATO e LOPES, 2007), apresentam diferenças no fruto.

As jabuticabas do mesmo cultivar podem ser desenvolvidas em localidades geográficas e condições climáticas diferentes, apresentando como consequência a diferença na proporção de cada nutriente, tamanho, aspecto e formato. Isso se deve em decorrência da luz, umidade, vento, altitude, pluviosidade e textura do solo, fatores que não podem ser controlados pelo homem (CHITARRA e CHITARRA, 1994).

Os dados obtidos na análise de pH e de sólidos solúveis juntamente com seu desvio padrão e com os dados encontrados na literatura, estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados das análises químicas de pH e sólidos solúveis (°Brix)

		Autores				
Resultados	pH	Sólidos Solúveis	Lima (2008)	Lima (2008)	Sato e Lopes (2007)	Sato e Lopes (2007)
			pH	SS	pH	SS
Média*	3,70 ± 0,44	11,30 ± 0,47	3,39	9,30	3,22	13,00

*Valores expressos por meio de média ± desvio padrão

Os dados obtidos na Tabela 5 para análise de pH se mostram próximos aos encontrados por Lima (2008) e diferindo de Sato e Lopes (2007). Ao observar os dados para sólidos solúveis, os dados de Sato e Lopes (2007) mais se aproximam do encontrado na presente pesquisa, os valores diferentes encontrados nesta pesquisa podem ser atribuídos por fatores climáticos, tipo de plantio, espécies diferentes de jabuticaba e o pré-tratamento da amostra antes da realização das análises.

5.2 Extração das Antocianinas

Na Tabela 6, pode-se observar que os Tratamentos 2, 3 e 5 se mostraram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), divergindo dos outros tratamentos que não obtiveram diferença estatística entre os métodos convencional e o método com ultrassom.

Observou-se que o Tratamento 3 [(1h), (1:10) e (20 °C)] obteve o maior rendimento ($766,03 \pm 45,78^a$) de extração de antocianina no método convencional, diferindo estatisticamente do método utilizando banho ultrassônico ($650,63 \pm 2,02^b$). O Tratamento 5 com método convencional foi que obteve o segundo maior rendimento ($739,32 \pm 40,45^a$) que diferiu estatisticamente do método com ultrassom ($571,19 \pm 41,89^b$). O Tratamento 7 [(1h), (1:10) e (40 °C)] foi o terceiro maior rendimento no método com ultrassom ($672,34 \pm 40,12^a$) e o método convencional ($693,60 \pm 17,61^a$), entretanto não houve diferença significativa entre os dois tratamentos.

Tabela 6 - Resultados das extrações do teor de antocianinas ($\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) extraídas da casca de jabuticaba pelos métodos convencional e ultrassom.

Tratamento	t (horas)	[C/S] (g/mL)	T (°C)	Tratamento Convencional	Tratamento com Ultrassom
1	1	1:5	20	$625,87 \pm 23,54^{aD}$	$555,29 \pm 70,63^{aE}$
2	2	1:5	20	$481,76 \pm 41,33^{aF}$	$356,71 \pm 23,44^{bH}$
3	1	1:10	20	$766,03 \pm 45,78^{aA}$	$650,63 \pm 2,02^{bB}$
4	2	1:10	20	$572,21 \pm 30,85^{aE}$	$549,25 \pm 22,01^{aF}$
5	1	1:5	40	$739,32 \pm 40,45^{aB}$	$571,19 \pm 41,89^{bC}$
6	2	1:5	40	$371,49 \pm 7,54^{aH}$	$361,02 \pm 58,65^{aG}$
7	1	1:10	40	$693,60 \pm 17,61^{aC}$	$672,34 \pm 40,12^{aA}$
8	2	1:10	40	$475,59 \pm 54,12^{aG}$	$562,37 \pm 8,20^{aD}$

* Resultados expressos por médias $\pm$ desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os métodos de extração. Letras maiúsculas na mesma coluna, indicam diferença significativa entre os tratamentos (ANOVA seguido pelo teste t student $p < 0,05$).

*Abreviações: t = tempo; [C/S] = Concentração Casca/ Solvente ; T = Temperatura.

Diferente do esperado, as amostras submetidas ao ultrassom apresentaram rendimentos menores, o que é explicado por Pourcel e colaboradores (2010). Segundo os autores a cavitação causada pelas ondas ultrassônicas aumentam a transferência de massa a partir da matriz vegetal do sólido para o solvente, o que melhora a extração. Porém, os radicais livres, alta pressão e temperatura formadas pela cavitação podem degradar as antocianinas quando expostas a esses fatores por mais de 90 minutos (MEREGALLI, 2017; CAVALHEIRO, 2013). Assim, justifica-se o fato de os tratamentos com ultrassom expostos por 2 horas obterem resultados menores

Na Tabela 7 estão os valores de antocianinas encontrados experimentalmente e os dados da literatura.

Os valores de teor de antocianinas encontrados se diferenciam, visto que tais teores podem variar de acordo com método de extração utilizado, a variedade da espécie, época de colheita, se houve ou não pré-tratamentos e as condições operacionais (CAVALCANTI, 2013).

Tabela 7 - Resultados das extrações expressos pelo teor de antocianinas (mg.100 g⁻¹), comparado com valores encontrados na literatura.

Tratamento Convencional	Tratamento Com Ultrassom	Autores			
		Teixeira et al. (2008)	Souza (2014)	Leite (2010)	Rubio (2014)
766,03	672,34	641,01	510,00	532,9	192,37

Ao analisar os valores encontrados, percebeu-se que Teixeira e colaboradores (2008) obtiveram valores semelhantes ao utilizar o método convencional encontrando 641,01 mg.100 g⁻¹ de antocianina na casca de jabuticaba. O valor próximo ao encontrado na amostra com ultrassom e menor ao ser comparado com o método convencional, sendo que a metodologia para quantificação de antocianinas utilizada pelo autor foi a mesma (pH diferencial), e na extração utilizou o mesmo solvente (etanol acidificado pH 4) , diferindo nos fatores tempo (24 horas) e temperatura (5 °C), o que influencia nos resultados obtidos.

Na pesquisa realizada por Souza (2014) foi utilizado ondas de ultrassom para extração de antocianinas do bagaço de jabuticaba, encontrou valor de 510 mg.100 g⁻¹, que foi próximo ao valor encontrado nessa pesquisa. A pesquisadora utilizou a mesma temperatura (20 °C) para extração, no entanto utilizou água acidificada a 1 % com ácido cítrico, na concentração 1:9. Além disso, vale ressaltar que a metodologia de quantificação de antocianinas utilizada por Souza (2014), se mostrou distinto do método de pH diferencial realizado no presente trabalho.

Para analisar a composição e a capacidade antioxidante *in vivo* e *in vitro* de antocianinas da casca de jabuticaba, Leite (2010) utilizou vários métodos para extração de antocianinas. Ao avaliar o efeito do ultrassom o pesquisador extraiu 532,9 mg. 100 g⁻¹ de antocianinas, resultado abaixo do encontrado no presente trabalho, o que justifica esse resultado são mudanças na metodologia usadas pelo autor como o uso de metanol, água e ácido acético (85:15:0.5, v/v, MeOH), e o uso do ultrassom por apenas 5 minutos.

Rubio (2014), analisou a biossorção de antocianinas da casca de jabuticaba através do método convencional com solvente, e encontrou resultados significativamente menores em relação aos outros autores citados na Tabela 7. A autora utilizou o mesmo método de quantificação de antocianinas (pH diferencial), solvente (etanol), concentração de solvente (1:4) próxima a utilizada neste trabalho, leitura no mesmo comprimento de onda (520 – 700 nm), encontrou 192,37 mg.100 g⁻¹ de antocianinas na jabuticaba. Tal resultado pode ser

explicado pela pesquisadora ter utilizado etanol a 50 %, diferindo do etanol acidificado que foi utilizado neste trabalho.

5.2.1 Comparação entre fatores de extração

Para comparação e determinação dos melhores fatores utilizados (tempo, concentração de solvente e temperatura) foram plotados os gráficos de Pareto e superfícies de resposta das extrações realizadas pelos dois métodos. O gráfico de Pareto de cada procedimento pode ser observado nas Figuras 6 (extração convencional) e 7 (extração com ultrassom).

Considerando a Figura 6, observou-se que o fator 1 (tempo) teve influência negativa nos resultados, indicando que o menor tempo proporcionou uma maior extração. Averiguando o fator 2 (concentração) pôde-se observar que a concentração influenciou de forma positiva na quantidade de antocianinas extraídas, sendo que a maior concentração obteve maior rendimento na extração. Com o fator 3 (temperatura) percebeu-se que não houve significância durante a extração. Entretanto, ao analisar a interação do fator 1 (tempo) com o fator 3 (temperatura) (1x3), foi verificado um efeito significativo negativo na extração.

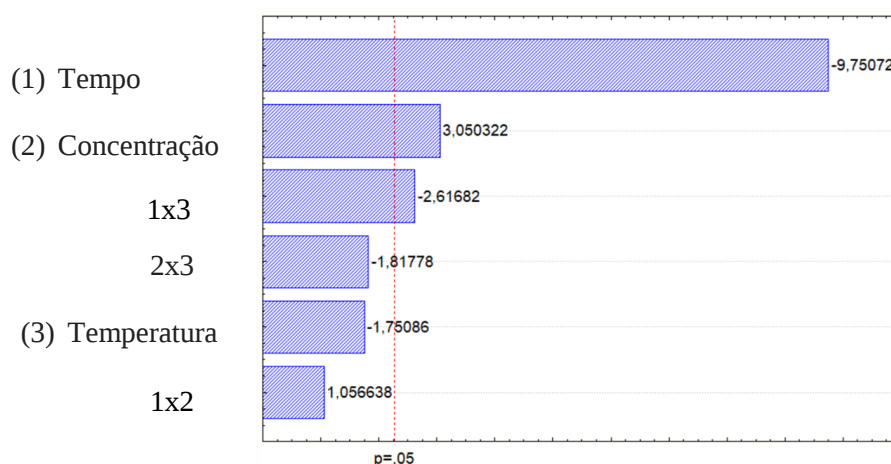


Figura 6 - Comparação entre fatores no método de extração convencional.
Estimativa de efeito padronizado (valor

A interação entre os fatores na extração com banho ultrassônico está expressa na Figura 7, pode-se comparar os fatores individuais e a interação entre cada fator.

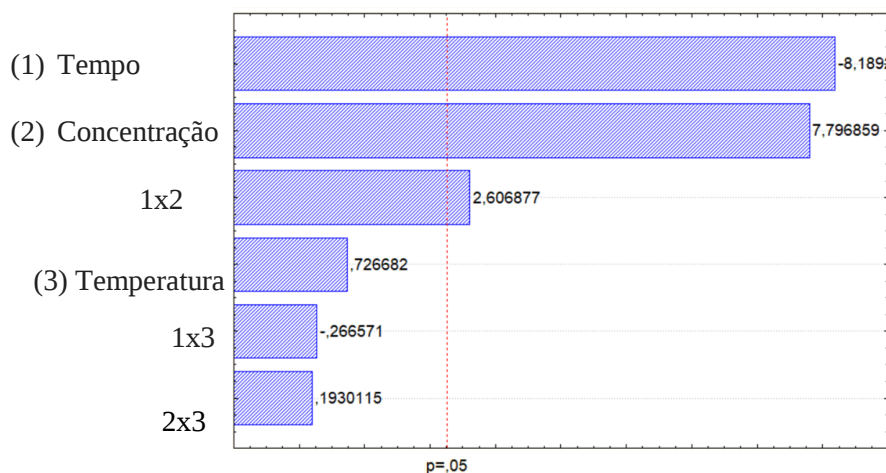


Figura 7 - Comparação entre Fatores no método de extração com ultrassom.
Estimativa de efeito padronizado (valor absoluto)

Na Figura 7 observou-se que o fator 1 (tempo) e 2 (concentração) tiveram a mesma reação ao ser comparado com a Figura 6, sendo o tempo um fator significativamente negativo e a concentração um fator positivo de forte influência nos resultados. Observando o fator 3 (temperatura) percebe-se que não houve significância durante a extração. Entretanto, ao analisar a interação do fator 1 (tempo) com o fator 2 (concentração) (1x2), temos um efeito significativo positivo na extração, indicando maior extração de antocianinas.

Com dados relatados acima, pôde-se observar que quanto maior o tempo de exposição aos processos, maior seria sua degradação. O tempo é um parâmetro crítico, sendo intimamente ligado com a temperatura, exposição a luz e armazenamento. Analisando o tempo de meia vida da antocianina, observa-se que a temperatura ambiente, a concentração de antocianinas pode diminuir a metade do valor inicial em menos de 2 dias (LOPES, 2007).

Devido a sua polaridade, as antocianinas fornecem melhores resultados em sua extração em etanol em meio acidificado com uma maior concentração, é possível extrair da matriz vegetal maiores componentes de interesse, gerando assim resultados satisfatórios em meios mais concentrados (ROCKENBACH et al., 2008). De acordo com Jardini e Mancini (2007), quando se tem concentrações elevadas de solvente há uma maior inibição da oxidação, e atividade microbiana.

No experimento a temperatura não foi um fator significativo, mas sabe-se que é um dos fatores importantes na estabilidade das antocianinas, pois pode haver degradação das mesmas. O substrato de antocianinas quando submetido a temperaturas superiores à ambiente

(25 °C), terá sua degradação acelerada, devido a desnaturação de sua matriz vegetal e mais acentuada quando se aumenta o pH do meio (STRINGHETA, 1991).

Robustecem as informações citadas acima os gráficos de superfície apresentados nas Figuras 8 e 9, onde se pode observar em quais condições se obteve melhor resultado.

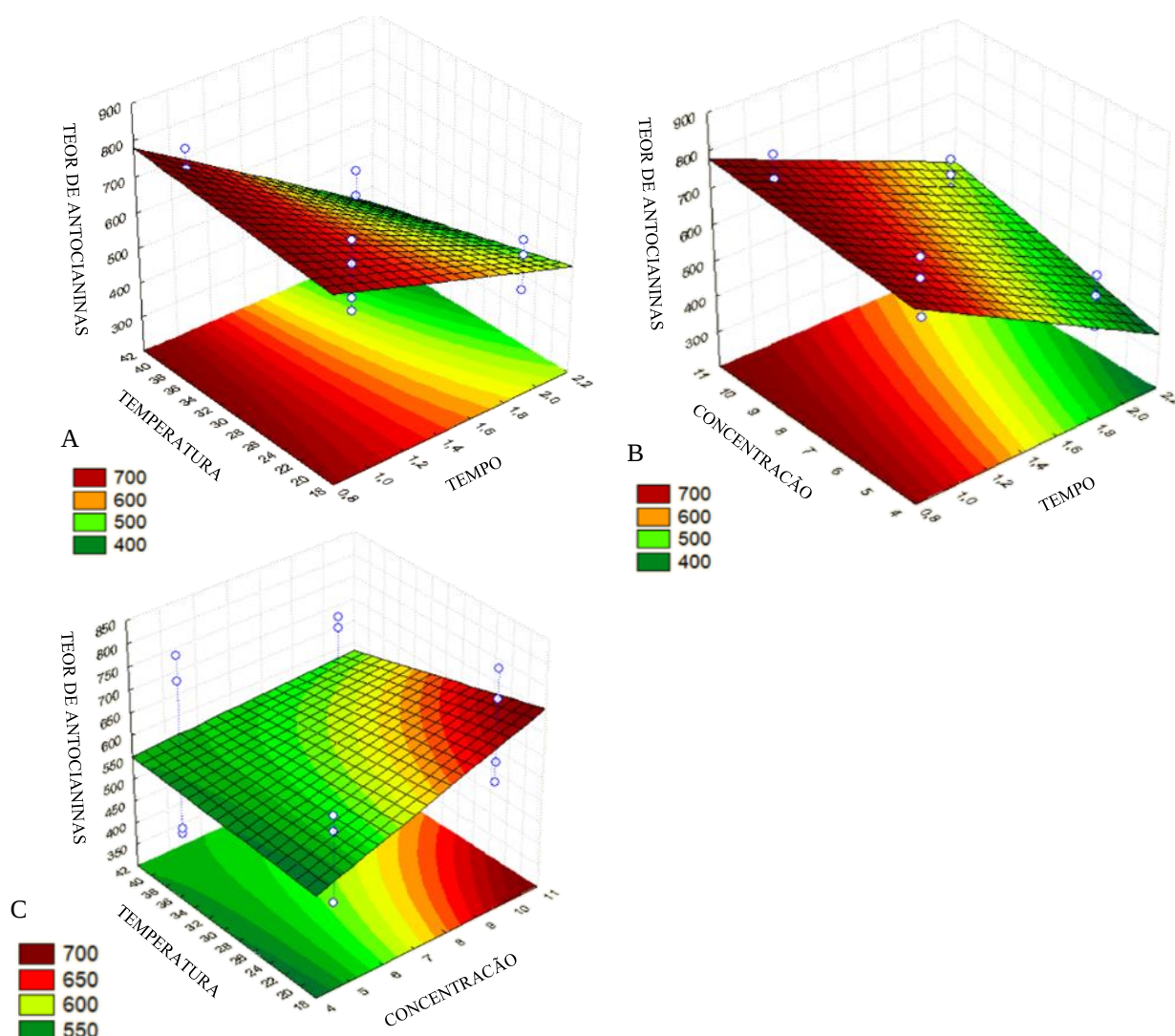


Figura 8 - Superfície de resposta mostrando o efeito da temperatura, tempo e concentração na extração de antocianinas pelo método com solvente convencional. **(A)** interação temperatura e tempo, **(B)** interação concentração e tempo e **(C)** interação temperatura e concentração.

A Figura 8 representa a extração do método convencional, na qual observou que em relação a interação temperatura e tempo (Figura 8-A) observamos que a temperatura mais elevada (40 °C) e o tempo menor (1 hora) se mostrou mais propenso a extrair quantidades maiores de antocianinas. Já a interação concentração e tempo (Figura 8-B), a concentração de

solvente maior (1:10) e o menor tempo se mostraram mais eficazes para extração dos compostos. E a interação temperatura e concentração (Figura 8-C) mostrou que quanto maior a concentração melhor a extração obtida e neste caso a temperatura não foi significativa, pode-se observar pelo eixo do gráfico.

Observando a Figura 9, podemos relacionar o uso do banho ultrassônico com as variáveis, percebe-se que (9-A) o teor máximo de antocianina foi extraído com maior concentração de solvente (1:10) e com o menor tempo de extração, observamos que a concentração do solvente influenciou na extração. Figura (9-B) relaciona temperatura e tempo, o tempo utilizado mostrou que quanto menor, maior a extração das antocianinas. Na Figura (9-C) a interação da temperatura e concentração mostrou que com uma menor temperatura e maior concentração se obtém maiores resultados da extração, neste caso pode-se observar que a temperatura não foi significativa, seu eixo baixo deixa claro sua interação na extração.

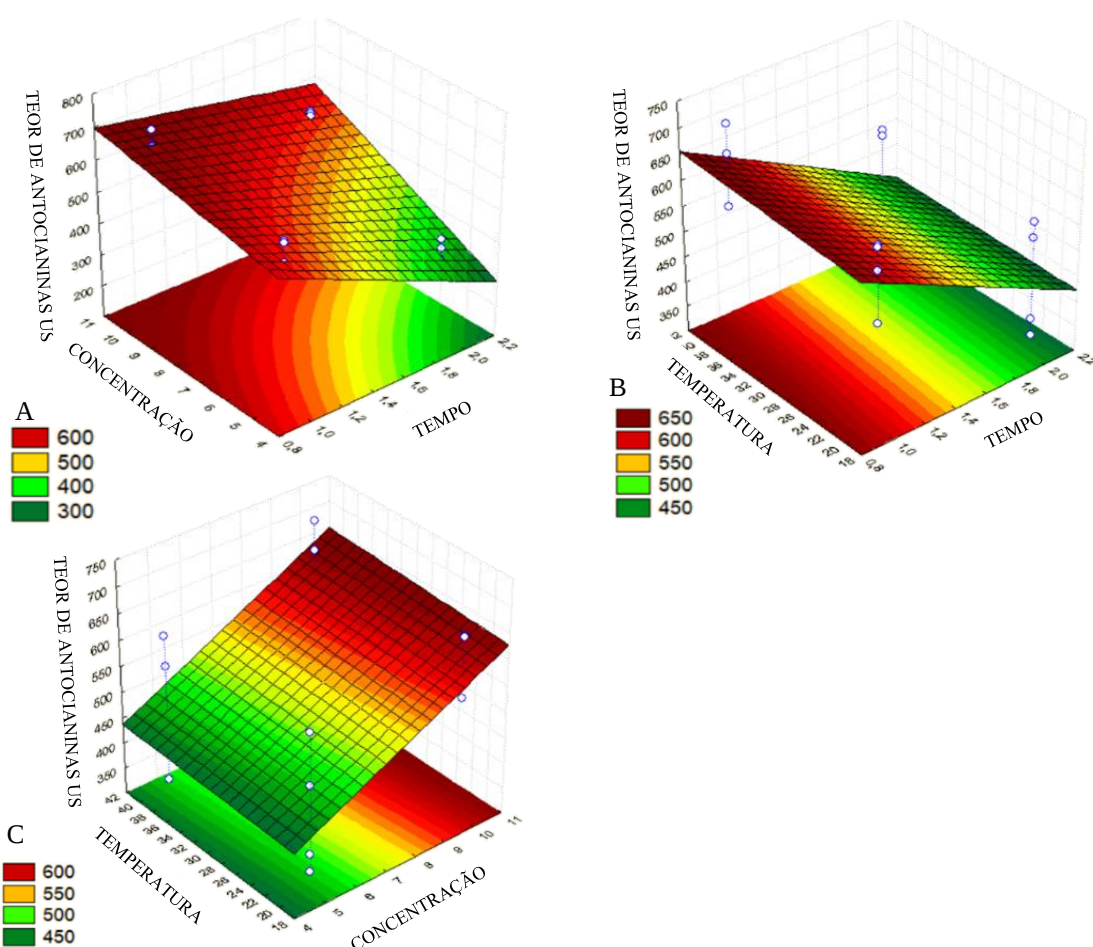


Figura 9 - Superfície de resposta mostrando o efeito da temperatura, tempo e concentração na extração de antocianinas pelo método com solvente com ultrassom (A) interação concentração e tempo, (B) interação temperatura e tempo e (C) interação temperatura e concentração.

6. CONCLUSÃO

Portando, foi verificado que os dados das análises proximais se aproximaram aos valores encontrados na literatura. As extrações se mostraram eficazes para os dois métodos propostos, mostrando diferença estatística entre os Tratamentos 2, 3 e 5. Através das análises de significância, demonstraram que os maiores teores de antocianinas foram extraídos quando foram empregados maior concentração e menor tempo, e a temperatura não foi um fator significativo na extração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do CEPPA**. Paraná: Curitiba, 2006. v. 24, n. 2, p. 319-336.

AOAC – **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18º ed. Washington, V I e 2, 2010.

BARBA, F. J.; ZHU, Z. KOUBAA, M. SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 96-109, jan. 2016.

CAVALCANTI, R. N. **Extração de antocianinas de resíduo de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) utilizando líquido pressurizado e fluido supercrítico: caracterização química, avaliação econômica e modelagem matemática**. Campinas, 2013, 235 p. Tese (doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

CAVALHEIRO, C. V. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europaea* L.** Santa Maria, 2013, 93 p. Dissertação (mestrado) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria.

CHITARRA, M. I; CHITARRA, A. B.; Colheita e qualidade pós-colheita de frutos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte - MG, v. 17, n. 179. p. 8-18, 1994.

CORRALES, M.; TOEPFL, S.; BUTZ, P.; KNORR, D.; TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 1, p. 85-91, fev/jun. 2008.

COTTA, J. A. O.; B.; REZENDE, M. O. O.; LANDGRAF, M. D. Avaliação de solventes de extração por ultrassom usando-se cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos contaminados. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2026-2033, ago. 2009.

FARIA, G. S.; JARDIM, F. B. B.; SILVA, A. C.; COSTA, L. L.; ABDALLA, D. R. Caracterização Química da casca de Jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*) liofilizada e sua aplicação em leite fermentado potencialmente simbiótico. **Jornal de Ciências Biomédicas e Saúde**, v. 2, n. 1, p. 2-9, jun. 2016.

FAUSTINO, R. C. S. **Processos emergentes de produção e conservação de alimentos**. Portugal, 2013, 164 p. Tese (doutorado) – Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve.

FAVARRO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação como corantes**. Campinas, 2008, 162 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

FERREIRA, D. F. SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

GARCIA, L. G. C. **Aplicabilidade tecnológica da jabuticaba**. Goiânia, 2014, 220 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, v. 50, n. 8, p. 1-13, mar. 2001.

HANDA, S. S.; KHANUJA, S. P. S.; LONGO, G.; RAKESH, D. D. **An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants**. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology (ICS – UNIDO), 260 p., 2008.

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

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, jun, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4ª Ed. EPU: São Paulo, v. 1, 2005.

JARDINI, F. A; MANCINI, F. J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos de polpa de semente de romã (*Punica granatum* L.). **Revista Brasileira de Ciência Farmacêuticas**, São Paulo. v. 43, n. 1, p. 137-147, jan./mar. 2007.

JESUS, N.; MARTINS, A. B. G.; ALMEIDA, E. J.; LEITE, J. B. V.; GANGA, R. M. D.; JUNIOR, E. J. S.; ANDRADE, R. A.; MOREIRA, R. F. C. Caracterização de quatro grupos de Jaboticabeira, nas condições de Jaboticabal-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 26, n. 3, p. 482-485, dez. 2004.

LEITE, A. V. **Avaliação da composição e da capacidade antioxidante "in vivo" e "in vitro" de antocianinas da casca de jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) liofilizada em ratos Wistar**. Campinas, 2010. 121 p. Dissertação (mestrado) - Área de Nutrição Básica Experimental Aplicada a Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

LIMA, A. J. B. **Caracterização e Atividade Antioxidante da Jabuticaba *Myrciaria cauliflora* Berg**. Lavras, 2009, 175 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras.

LIMA, A. J. B. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. 2008. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion - Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición**, Lavras. v. 25, n. 4, p. 416 – 421, dez. 2008

LIMA, D. M.; PADOVANI, R. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; FARFÁN, J. A.; NONATO, C. T.; LIMA, M. T.; SALAY, E.; COLUGNATI, F. A. B.; GALEAZZI, M. A. **Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO**, NEPA-UNICAMP: São Paulo, 2011.

LOPES, T. J. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, jul./set. 2007.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 659-664, out./dez. 2005.

MAZZA, K. E. L. TELES, A. S. C; CALDAS, T.W; BRIGIDA, A. I. S. BORGUINI, R. G; TONON, R. V. Efeito das condições de processo na extração assistida por ultrassom de fenólicos do bagaço de uva. In: **Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.; X CIGR SECTION VI INTERNATIONAL TECHNICAL SYMPOSIUM, 2016, Gramado. Alimentação: árvore que sustenta a vida. Anais. Gramado: SBCTA Regional, 2016.

MEREGALLI, M. M. **Estudo comparativo de diferentes métodos de extração de compostos bioativos da casca do araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine)**. Erechim – RS, 2017, 76 p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões.

MONTES, C.; VICARIO, I. M.; RAYMUNDO, M.; FETT, R.; HEREDIA, F. J. Application of tristimulus colorimetry to optimize the extraction of anthocyanins from Jaboticaba (*Myrcia Jaboticaba Berg.*). **Food Research International**, New York, v. 38, n. 8-9, p. 983-988, 2005.

NARAYAN, M. S.; NAIDU, K. A.; RAVISHANKAR, G. A.; SNIRIVAS, L.; VENKATARAMAN, L. V. Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation. India. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 60, n. 1, p. 1-4., jan. 1999.

PEREIRA, M. **Propagação via estacas apicais, caracterização morfológica e molecular de jabuticabeiras (*Myrciaria spp*)**. São Paulo, 2003, 101 p. Tese (doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo.

POURCEL, L.; IRANI, N. G.; LU, Y.; RIEDL, K.; SCHWARTZ, S.; GROTEWOLD, E. The formation of anthocyanic vacuolar inclusions in arabidopsis thaliana and implications for the sequestration of anthocyanin pigments. **Molecular Plant**. v. 3, n. 1, p. 78–90, jan. 2010.

REYNERTSON, K. A. **Phytochemical analysis of bioactive constituents from edible Myrtaceae fruits**. New York, 2007, 142 p. Tese (Doutorado). Graduate Faculty in Biology - City University of New York.

ROCKENBACH, I.I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1. p. 238-244, jan. 2008.

RUBIO, F. T. V. **Estudo da biossorção de antocianinas da casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) em resíduo de indústria de cerveja**. Campo Mourão, 2014, 57 p. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso Superior de Engenharia de Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SANTOS, W. J. **Extração de compostos antioxidantes da folha da mangueira (*Mangifera indica* L.) utilizando CO₂ supercrítico, água/etanol**. Campinas, 2013, 148 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas.

SASSO, S. A. Z. **Propagação Vegetativa De Jabuticabeira**. Pato Branco, 2009. 64 p. Tese (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Agronomia - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SATO, A. C. K.; LOPES, R. L. Influência da Temperatura no Comportamento Reológico da Polpa de Jabuticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 80-896., 2007.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations – a review of current status. **Chemical Engineering – Process Intesification**, v. 53, p. 10-23, set. 2012.

SILVA, G. J. F; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria ssp.*). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 429-436, 2010.

SOUZA, A. C. P. **Caracterização e estabilidade de micropartículas de antocianinas extraídas do bagaço da produção do suco de jabuticaba**. Porto Alegre, 2014, 128 p. Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Química - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da fluorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. São Paulo, 1991. 138 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.

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

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. Campinas, 2004. 213 p. Dissertação (Doutorado). Instituto de Química – Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas.

VIERA, V. B. **Compostos bioativos, atividade antioxidante e antimicrobiana na casca de cebola roxa (*Allium cepa* L.) submetidos a diferentes métodos de extração**. Santa Maria – RS, 2016, 123 p. Tese (Doutorado). Centro de Ciências Rurais – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

XAVIER, M.F. **Estudo da extração de antocianinas em colunas recheadas**. Florianópolis, 2004, 120 p. Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Química – Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina.