



CENTRO UNIVERSITÁRIO FACVEST - UNIFACVEST
ENGENHARIA QUÍMICA
AMABILE GARBIN

MÉTODOS COMPARATIVOS NA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS
DA FRAMBOESA *RUBUS IDAEUS L.* SOB DIFERENTES SOLVENTES

Lages (SC)
2019

AMABILE GARBIN

**MÉTODOS COMPARATIVOS NA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS
DA FRAMBOESA *RUBUS IDAEUS* L. SOB DIFERENTES SOLVENTES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Engenharia Química do Centro Universitário Facvest - Unifacvest, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Química.

Centro Universitário Facvest - Unifacvest

Supervisor: MSc Rodrigo Vieira

**Lages (SC)
2019**

AMABILE GARBIN

**MÉTODOS COMPARATIVOS NA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS
DA FRAMBOESA *RUBUS IDAEUS* L. SOB DIFERENTES E
SOLVENTES.**

Este trabalho de conclusão de curso foi julgado adequado como requisito parcial para obtenção do título de Engenharia Química e aprovado em sua forma final pelo Supervisor pedagógico do Curso de Engenharia Química, do Centro Universitário Facvest – Unifacvest.

Lages, 27 de novembro de 2019.

Professor e Orientador MSc Aldori Batista dos Anjos
Centro Universitário Facvest - Unifacvest

Professor e Coorientador MSc Rodrigo Vieira
Centro Universitário Facvest - Unifacvest

Dedico este trabalho as pessoas mais importantes de minha vida: minha mãe, meus irmãos, meu sobrinho e meu namorado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a ciência como instrumento de reflexão capaz de nos tirar da obscuridade da ignorância.

Agradeço a minha mãe, Cleci, por toda a sua dedicação, incentivo, palavras de carinho e amor durante minha criação.

Agradeço aos meus irmãos, Eder e Euclides, por sempre me apoiarem nos momentos de dificuldade, me incentivando a ser uma pessoa melhor e buscar meus objetivos.

Agradeço ao meu sobrinho Bernardo por todo o incentivo e momentos de descontração.

Agradeço ao meu namorado Guilherme por todo o auxílio e paciência para comigo durante esse último ano de graduação, sei que não foi fácil.

Agradeço ao meu coorientador, Dr. João Frederico, por todas as correções, dicas e ensinamentos compartilhados.

Agradeço a todos meus amigos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento, em especial a Letícia Scopel, que me ajudou na busca por estágio e com os cálculos estatísticos, e a Rafaela Peron por me ceder os reagentes necessários para as análises.

RESUMO

O presente trabalho verificou o rendimento das extrações de antocianinas presentes na framboesa *Rubus idaeus* L., mediante a diferentes metodologias de extração e solventes. A framboesa é uma pequena fruta de clima temperado que vem despertando o interesse do produtor devido aos seus elevados valores de venda, sua pigmentação atraente em tons avermelhados é responsável pela presença de antocianinas, uma classe de flavonoide rica em antioxidantes. Atualmente há uma crescente nos estudos relacionados às antocianinas, principalmente pelo interesse das indústrias na sua ação antioxidante e também como corante. A quantificação total dos teores de antocianinas presentes mediante as diferentes técnicas é importante para verificar qual possui um maior rendimento e menor valor. Mediante às extrações, foram realizadas em diferentes tempos de repouso, temperatura e agitação. Para a quantificação do teor de antocianinas totais em mg para cada 100g de amostra foram utilizados os métodos clássicos de pH Único e pH Diferencial, foram realizadas três diferentes extrações, as amostras foram submetidas à repouso sob abrigo de luz por 24 horas, repouso à temperatura ambiente sob abrigo de luz por 1 hora e agitação por 2 horas a uma frequência de 100 rpm, os solventes utilizados foram: acetona P.A, etanol 95%, ácido cítrico 1% e água deionizada. Verificou-se que na maioria dos métodos de extração o solvente acetona P.A foi o que obteve maior rendimento, tanto quanto no método de pH Único quanto o pH Diferencial. Já as amostras que ficaram em repouso por 1 hora foram as que apresentaram maiores valores também para a acetona.

Palavras-chave: Ph Único. PH Diferencial. Quantificação.

ABSTRACT

The present work verifies the yield of anthocyanin extractions present in Raspberry *Rubus idaeus* R, using different extraction methods and solvents. A raspberry is a small temperate fruit that arouses or causes interest due to its high selling values, its attractive pigmentation in average tons is responsible for the presence of anthocyanins, an antioxidant-rich flavonoid class. Currently, an increasing in studies related to anthocyanins, mainly due to the interest of industries in its antioxidant action and also as a dye. A total quantification of the anthocyanin contents present using the different techniques is important to verify which one has a higher yield and a lower value. Through how extractions were performed at different times of rest, temperature and also under agitation. To quantify the total anthocyanin content in mg per 100g / sample, the classical methods of Single pH and Differential pH were used. Three different extractions were performed, such as those that underwent a 24-hour rest period under light protection. at room temperature under light shelter for 1 hour and stirring for 2 hours at a frequency of 100 rpm, the solvents used were: acetone PA, 95% ethanol, 1% citric acid and deionized water. Most of the acetone PA extraction or solvent extraction methods had the highest yield, both the Single pH and the Differential pH method, as the samples that were left to stand for 1 hour were the same amount of values for acetone.

Keywords: Single Ph. PH Differential. Quantification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Morfologia da Framboesa.....	18
Figura 2: Classificação dos Compostos Fenólicos.....	24
Figura 3: Fluxograma do processo de extração.....	30
Figura 4: Coloração pH 1,0.....	33
Figura 5: Coloração pH 4,5.....	34
Figura 6: Coloração pH Único 2,0.....	34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01:** Valores médios e desvio padrão de absorbâncias obtidas em espectrofotometria das amostras em repouso por 24 horas, sob refrigeração..... 32
- Tabela 02:** Valores médios e desvio padrão de absorbâncias obtidas em espectrofotometria das amostras em repouso por 1 hora em abrigo de luz.....
.....32
- Tabela 03:** Valores médios e desvio padrão de absorbâncias obtidas em espectrofotometria das amostras sob agitação por 2 horas a 100 rpm.....33
- Tabela 04:** Teores de antocianinas totais das amostras em repouso de 24 horas sob refrigeração a 5°C
..... 35
- Tabela 05:** Teores de antocianinas totais das amostras em repouso por 1 hora em abrigo de luz em temperatura ambiente35
- Tabela 06:** Teores de antocianinas totais das amostras sob agitação por 2 horas em 100 rpm
.....35

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Cálculo do teor de Antocianinas Totais (Ant-T).....	31
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Comparação do teor de Antocianinas Totais.....	37
--	----

LISTA DE SIGLAS

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas)

g - Grama

t - Tonelada

ha - Hectare

ma- Massa

mg - Miligrama

mL - Mililitro

nm - Nanômetro

°C - graus celsius

CO₂ - Gás Carbônico

O₂ - Oxigênio

pH - Potencial Hidrogeniônico

N - Normal

KCL - Cloreto de potássio

HCl - Ácido clorídrico

AntT - Antocianinas Totais

DO - Densidade Ótica do Extrato Diluído

VEc - Volume Total do Extrato Concentrado

VAIq - Volumeda Alíquota do Extrato Primário a ser diluída para fazer o Extrato Secundário

VED - Volume Total do Extrato Diluído.

E1cm1% - Coeficiente de Extinção

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Objetivo Geral.....	16
1.2 Objetivos Específicos	16
2. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	17
2.1 Classificação e Morfologia do fruto	17
2.1.1 Manejo da Cultura	19
2.1.2 Cenário Mundial de Cultivo.....	19
2.1.3 Cenário Nacional de Cultivo.....	19
2.1.4 Pós Colheita.....	20
2.1.5 Comercialização.....	21
2.2 Compostos Bioativos.....	22
2.2.1 Antioxidantes	22
2.2.2 Antioxidantes Naturais	23
2.2.3 Compostos Fenólicos.....	23
2.2.4 Flavonóides.....	24
2.2.5 Antocianinas	25
2.3 Processo extrativo	26
2.3 Extração sólido-líquido	27

3.METODOLOGIA.....	28
3.1 Métodos Experimentais	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
5. CONCLUSÕES	38
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

A Framboesa *Rubus idaeus* L. é uma espécie não muito explorada e de pouco conhecimento no Brasil, porém é uma cultura que apresenta uma grande possibilidade de renda para os pequenos agricultores, principalmente por suas qualidades relacionadas às altas taxas de antioxidantes, vitaminas e minerais que recentemente têm despertado o interesse de consumidores e da indústria (CANTILLANO, et al., 2018; RASEIRA, et al., 2004).

A framboesa *R. idaeus* L., é uma planta rústica altamente difundida em países com alta altitude e climas temperados, sua cultura foi introduzida no Brasil em meados dos anos 1950, em Campos do Jordão (São Paulo), atualmente seu cultivo tem se desenvolvido principalmente nos estados de São paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul com destaque para cultivares em Santa Catarina, devido as suas adequadas condições climáticas (CAMINITI et al., 2016; PAGOT, 2004; ULIANA e KLUGE, 2013).

Vários compostos lipofílicos e hidrofílicos estão disponíveis nas frutas tipo *berries*, como as framboesas, nelas também encontramos altos níveis de antioxidantes, devido a sua ampla diversidade de compostos fenólicos presentes, estes principalmente compostos por antocianinas (FERREIRA, ROSSO e MERCADANTE 2010; GUIMARÃES 2012).

As antocianinas são uma classe de flavonoides, elas são caracterizadas principalmente por ser a maior classe de pigmentos solúveis naturais e com maior distribuição no reino vegetal, outra característica é sua função antioxidante, que é considerada muito mais eficaz que outros antioxidantes clássicos, como a vitamina E (BRIDLE e TIMBERLAKE, 1997; LOPES et al., 2007).

Em condições ácidas, as antocianinas apresentam uma coloração vermelho brilhante, e em sua forma catiônica onde encontramos maior estabilidade para as antocianinas, com o aumento do pH a coloração diminui sua intensidade, mudando para tonalidade de azul e apresentam-se de forma instável devida a desprotonação que ocorre (PALUDO, 2013).

Segundo Meregalli (2017), processo de obtenção de compostos bioativos como as antocianinas se dá principalmente pela extração, onde normalmente o uso do solvente é utilizado retirando da planta seus compostos de interesse. Como métodos para extração

sólido-líquido encontramos a maceração, prensagem e arraste. A extração por maceração é uma boa opção quando se visa simplicidade de equipamentos e baixo custo operacional.

Este trabalho apresenta a aplicação de processos de extração de antocianinas com a utilização de solventes de baixo custo e de fácil disponibilidade de mercado em diferentes formas de extração, para sua quantificação foram utilizados os métodos espectrofotométricos de pH Único e Diferencial.

Nos capítulos seguintes será abordada uma revisão de literatura sobre a framboesa *R. idaeus* L, apresentando sua morfologia, formas de cultivo, disponibilidade de mercado e também uma revisão sobre os compostos fenólicos presente na mesma, em especial as antocianinas. Em sequência é apresentada as metodologias aplicadas e os resultados obtidos.

1.1 OBJETIVO GERAL

Compara os rendimentos de antocianinas presentes na framboesa *R. idaeus* L., cultivadas na região da serra catarinense, obtidas através das diferentes técnicas e solventes aplicados utilizando a espectrofotometria para a determinação das antocianinas totais.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a extração das antocianinas presentes na framboesa *R. idaeus* sob diferentes metodologias e solventes que comumente são encontrados e que apresentam baixo custo para as indústrias;
- Através da espectrofotometria realizar a quantificação dos extratos obtidos pelos diferentes solventes e metodologias;
- Realizar uma análise através de cálculos para apresentar qual solvente apresenta maior rendimento de quantidades de antocianinas totais extraídas.

2. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

2.1 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E MORFOLOGIA DO FRUTO

Conforme Sousa (2007), as framboesas são pertencentes ao Reino Plantae, Divisão Magnoliophyta, Clado eudicotiledóneas, Clado rosídeas, Ordem Rosales, família das Rosaceae, gênero *Rubus*. Nelas incluem-se plantas herbáceas, perenes e bienais e estão subdivididas em um elevado número de subgêneros. O subgênero *Idaeobatus*, é onde encontra-se as framboesas, elas têm ocorrência em todos os continentes mas com maior incidência no hemisfério Norte, com especial ocorrência na Ásia, Europa e América do Norte.

Segundo Kretzschmar, Rufato e Pelizza (2013), atualmente há registros de mais de 700 espécies somente no hemisfério norte. Acredita-se que a espécie *R. idaeus* tenha sua origem na Ásia Menor, porém cresce de forma espontânea em vários países da Europa.

A framboeseira é um arbusto estolonífero, que desenvolve os seus talos de forma subterrânea, onde ocorre a brotação. Apresenta sistema radicular fasciculado, que possui como função a sustentação, absorção e armazenamento de nutrientes, constituindo a parte perene da planta e apresentando crescimento máximo no verão. As gemas reprodutivas que dão origem ao fruto surgem de hastes presentes no sistema radicular, geralmente apresentam apenas uma gema axilar por nó, sendo todas as gemas potencialmente frutíferas, seu período de longevidade pode chegar a mais de 20 anos (ULIANA E KLUGE, 2013; KRETZSCHMAR et al., 2013).

De acordo com Uliana e Kluge (2013), o caule da framboeseira apresenta forma cilíndrica, podendo ter acúleos e pelos ou serem lisas. As folhas dos ramos frutíferos são trifoliadas e enquanto fase adultas têm cinco folíolos.

As framboesas apresentam em maneira geral uma forma cônica arredondada, de múltiplos drupéola, sendo cada, constituída por uma semente dura envolvida por uma polpa, geralmente elas possuem de 10 a 20 mm de diâmetro, pesando em torno de 2,5 à 5 g. A coloração apresentada pelos frutos varia do amarelo ao preto, incluindo os tons de laranja, rosa, vermelho claro e intenso e púrpura, seu sabor é doce ou ácido (SOUSA, 2007; RASEIRA et al., 2004).

De acordo com Pritts (2009), as sementes da framboesa são pequenas, apresentam massa média de um miligrama que compreendem cerca de 4-5% da massa total da baga da fruta.

Segundo Caminiti et al. (2016) por ser uma espécie rústica, a framboesa tem facilidade em adaptar-se em solos úmidos e profundos que são ricos em matéria orgânica. As framboesas podem ser cultivadas em uma grande amplitude de climas, mas nas zonas temperadas apresentam uma melhor produção. Para uma produtividade máxima é necessário a ocorrência de verões não muito quentes e invernos de frios extremos pois, elas precisam de cerca de 600 a 800 horas de frio abaixo de 7,2 °C. Também existem variedades cujos requerimentos podem ser maiores que 1.000 horas de frio.

Uma alta incidência de luz, principalmente em dias ensolarados, é importante e benéfico a framboesa, propiciando uma qualidade máxima organoléptica dos frutos, com uma melhora no desenvolvimento da coloração, brilho e tamanho (PAGOT, 2006; CHITARRA, CHITARRA, 2005).

Segundo Raseira (2004) a *R. idaeus* L. apresenta um período de dormência onde ocorre uma inatividade fisiológica que permite a sobrevivência da planta mesmo em baixas temperaturas, pois mesmo que de maneira reduzida as atividades metabólicas da framboeseira continuam durante este período propiciando um novo ciclo de crescimento e frutificação durante a primavera. O início do período de frutificação se dá de 12 a 18 meses após o transplântio das mudas ao local definitivo de cultivo.

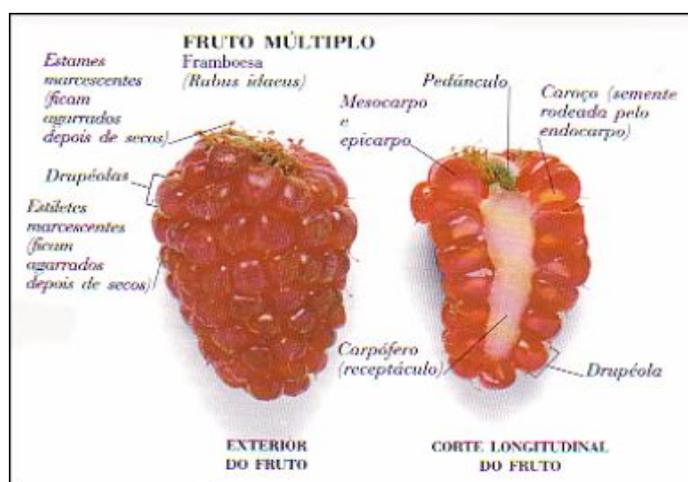


Figura 1: Morfologia da Framboesa
Fonte: Dicionário Visual das Plantas (1993)

2.1.1. MANEJO DA CULTURA

Em relação ao manejo da framboeseira uma atenção especial deve ser dada em relação à poda e ao desbaste de hastes da planta. Em cultivares de solo brasileiro, a partir do mês de novembro, após a frutificação, e durante as colheitas que se estendem entre os meses de dezembro e janeiro é possível optar pela manutenção ou não das hastes que frutificaram. Quando se opta pela manutenção das hastes é possível se ter dois ciclos produtivos da planta, que ocorre a partir do desponte realizado no inverno, este desponte tem por objetivo a retirada da porção apical onde houve a safra de outono, possibilitando assim novas ramificações laterais, onde no verão haverá produção de frutos (OLIVEIRA e FONSECA, 2007; RASEIRA et al., 2004).

2.1.2 CENÁRIO MUNDIAL DE CULTIVO

O cultivo intenso da framboesa se dá em países da Europa, Leste Europeu e América do Norte, e em menor grau na Austrália e Nova Zelândia. Com uma área mundial de aproximadamente 92 mil hectares de área cultivada, têm-se como destaques os países com maior superfície plantada são a Rússia (26.100 ha), a Polônia (20.768 ha) e Sérvia (15.171 ha), responsáveis por cerca de 67% das áreas de cultivo mundial (CAMINITI et al., 2016; FAO, 2012).

Em relação a produção anual, segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2013) os maiores produtores mundiais da cultura de framboesa encontra-se a Rússia com 143.000 toneladas, Polônia com 121.040 toneladas e os Estados Unidos apresenta uma produção de 91.300 toneladas. A produtividade média mundial da fruta é de 5 t ha⁻¹, em destaque como países que atingem uma produtividade acima da média temos a Holanda, o México e Marrocos, com 17,3 t ha⁻¹, 15,5 t ha⁻¹ e 13,7 t ha⁻¹ respectivamente. Na América Latina os principais produtores são Chile e México. De acord com a FAO o Chile apresenta uma produção anual de 30 mil toneladas, em cerca de 5.000 hectares, representando uma produtividade de 6 t ha⁻¹. Além disso possui uma logística de exportação de alta tecnologia, que alcança os principais mercados consumidores mundiais da fruta.

2.1.3 CENÁRIO NACIONAL DE CULTIVO

No Brasil, a cultura da framboesa foi introduzida primeiramente na região de Campos do Jordão no estado de São Paulo, em meados da década de 50, pelo então barão holandês Otto Von Leithner através de alguns pequenos cultivares. Atualmente a produção da framboesa é realizada principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Este último é o principal estado produtor, com destaque para a região de Vacaria, região dos Campos de Cima da Serra, que concentra a maior área de produção do Brasil, com cerca de 150 hectares de terra plantada. A área de cultivo da cultura tem apresentado um crescimento significativo, principalmente por apresentar uma boa opção de renda aos pequenos produtores desta região (PAGOT, 2004; ULIANA e KLUGE, 2013; CAMINITI et al., 2016).

De acordo com Raseira et al. (2004), é uma cultura que apresenta algumas limitações técnicas de cultivo, principalmente em relação a sua sensibilidade ao clima, em especial as condições encontradas no Sul do Brasil, que apresenta uma elevada pluviosidade e umidade relativa do ar. Todavia, o estado de Santa Catarina apresenta condições climáticas adequadas para o cultivo de framboesa, no entanto, faltam estudos relacionados a cultivares e manejos adequados para a cultura (CASA et al., 2010), fatores estes que podem ser apontados como entraves para uma maior produção nacional da cultura.

2.1.4 PÓS COLHEITA

A framboesa apresenta comportamento típico de frutos com padrão respiratório não climatérico, onde não ocorre maturação nos frutos após colhidos, entretanto apresentam uma vida muito curta de armazenagem, principalmente a sua rápida deterioração que decorre devido à desidratação e troca de calor. Para manter o fruto com uma qualidade por maior tempo alguns cuidados devem ser tomados já na colheita, onde recomenda-se então que esta seja feita no momento que o fruto atingir a plena maturação na planta. Em relação ao armazenamento, estudos indicam que o ideal é realizar o resfriamento do fruto a 0° com umidade entre 90 e 95% (RASEIRA et al., 2004; CAMINITI et al, 2016).

De acordo com Raseira et al, (2004) ainda há algumas recomendações que devem ser adotadas para diminuir o metabolismo do fruto e aumentar a vida de prateleira pós-colheita.

segundo a autora o ideal é fazer a colheita do fruto diretamente na embalagem que será feita a comercialização, nos horários mais frescos do dia, dando preferência para as primeiras horas da manhã pois o fruto apresenta uma temperatura mais baixa, e ainda se possível, as embalagens devem ser colocadas em isopor com a presença de gelo, possibilitando o resfriamento rápido do fruto.

Segundo Botrel (1994) uma maneira de aumentar a vida do fruto pós-colhido seria a utilização de refrigeração com uma atmosfera controlada ou até mesmo modificada, pois neste ambiente a respiração dos frutos reduz a concentração de oxigênio e aumenta a de gás carbônico, este método aliado ao uso de embalagens plásticas de limitada permeabilidade ao gás carbônico (CO_2) e oxigênio (O_2) propiciam uma maior resistência do fruto e uma redução de perdas no pós colheita.

2.1.5 COMERCIALIZAÇÃO

De acordo com Raseira, et al. (2004), nas regiões norte-americana e Escocesa, a venda in natura é limitada ao comércio local, por apresentar uma taxa metabólica muito elevada os frutos apresentam uma alta perecibilidade, não suportando transportes de longas distâncias, devido a isso a maioria dos frutos tem como destino a comercialização em forma de congelados ou derivados, como iogurtes, geleias e sucos.

Segundo Fagundes (2007), no Brasil, é realizado a logística de transporte aéreo a fim de diminuir a perecibilidade, do fruto. O maior mercado consumidor da cultura se encontra no estado de São Paulo, pois é nele onde está localizado o maior número de atacadistas da fruta, onde o destino delas geralmente são as prateleiras de lojas especializadas ou mercados direcionados a consumidores da classe A, isso ocorre devido ao alto o valor da cultura, onde o preço médio de comércio da fruta in natura é em torno de R\$ 90,00 o quilo para o consumidor final.

Para a comercialização da fruta, alguns índices de qualidade devem ser observados; quando colhidos os frutos devem apresentar no máximo 7% de sólidos solúveis, e acidez titulável de no máximo 0,8% e ainda o valor nutricional (vitaminas A e C). Pelo consumidor os itens avaliados são aparência (cor, tamanho, forma e ausência de defeitos), firmeza da fruta e sabor (CANTILANO et al, 2018; PAGOT, 2006).

2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

De acordo com Sousa (2007), o grupo de pequenos frutos, no qual se inclui a framboesa é caracterizado por possuir compostos reconhecidos por sua capacidade antioxidante, como os fenólicos, que são constituídos essencialmente por antocianinas, flavonóis, proantocianidinas (elagitaninos e galtaninos) e ácidos fenólicos, catequinas e isoflavonoides. De acordo com a World's Healthiest Foods, nos frutos da framboeseira, cerca de 20% do seu peso total é referente aos compostos biativos, entre eles a vitamina C e o ácido fólico.

Na framboesa, como ácidos fenólicos existentes, pode ser citado o ácido gálico, cumárico, cafeico e clorogénico e como os principais flavonóides presentes estão as antocianinas, flavan-3-óis, flavanonas, flavonóis e flavonas. Com destaque para antocianinas, é encontrado a cianidina-3-soforósido (presente em maior quantidade), cianidina-3-glucósido e pelargonidina-3-glucósido (BORGES et al., 2010; MULLEN et al., 2003; SEERAM et al., 2006).

2.2.1 ANTIOXIDANTES

Podemos definir os antioxidantes de uma maneira mais específica como um conjunto de substâncias heterogêneas que, em relação a um determinado substrato retarda ou previne a oxidação do substrato oxidável, bloqueando os efeitos danosos dos radicais livres (MESSIAS, 2009; HALLIWEL, GUTTERIDGE, 1995). Segundo Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), em seu Decreto 50.040, os antioxidantes são definidos como substâncias que retardam o aparecimento ou alteração oxidativa nos alimentos.

De acordo com Angelo e Jorge (2006), a forma que ocorre a ação dos antioxidantes os divide em primários e secundários. Os primários são antioxidantes capazes de doar elétrons ou hidrogênio para os radicais livres, interrompendo a cadeia da reação, e os secundários também conhecidos como sinérgicos, tem como atuação retardar a iniciação da autoxidação, esse retardo se dá de diferentes formas, incluindo complexação de metais, absorção da radiação ultravioleta, sequestro de oxigênio entre outros.

A atividade antioxidante de compostos fenólicos é principalmente devida às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres (DEGÁSPARI, WASZCZYNSKYJ, 2004).

2.2.2 ANTIOXIDANTES NATURAIS

Segundo Ramalho e Jorge (2006), os antioxidantes naturais representam uma grande classe de compostos químicos, atuando de diferentes maneiras no processo de oxidação, através de doação de elétrons, como os compostos fenólicos, ou através de atuação como catalisadores da reação de oxidação, caso dos antioxidantes secundários como o ácido ascórbico (vitamina C) e cítrico.

Entre os antioxidantes presentes em frutas e vegetais, os mais facilmente disponíveis são os compostos fenólicos, também são considerados como os mais ativos. A relação entre a atividade antioxidante e estrutura da molécula dos compostos fenólicos é relativamente complexa, variando de acordo com a estrutura da molécula e as substituições que nela ocorrem (MESSIAS, 2009; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Nos últimos 20 anos a busca por antioxidantes naturais têm aumentado significativamente, principalmente para o uso em produtos da indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. O grande interesse pelo estudo da oxidação lipídica, ocorre devido a deterioração que este tipo de dano oxidativo pode causar, como a rancificação, perda de aromas e formação de sabores desagradáveis (*off-flavors*), motivos estes que podem afetar o consumidor negativamente. Por ser um processo complexo que apresenta uma variedade de fatores que incluem os radicais livres, a oxidação lipídica está diretamente ligada as alterações da temperatura, luz, presença de O₂, além das propriedades físico-químicas do produto e da presença de possíveis iniciadores e catalisadores da reação (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007; MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007).

2.2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos, também chamados polifenóis, são estruturas químicas amplamente encontradas na natureza (SILVA et al., 2010), são organismos secundários

encontrados em flores, sementes e frutas. Os fenólicos são caracterizados por serem substâncias aromáticas onde há presença de um anel aromático, este apresenta um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Devido as substituições dos anéis aromático (hidroxilações, metilações, glicosilações, acilações, entre outros) há uma classificação de acordo com o grau de oxidação do anel heterocíclico, esta classificação os divide em antocianinas, flavanóis (catequinas) e flavonóis. (BRAVO, 1998.; POURCEL et al., 2006.; ANGELO, JORGE. 2006). A figura 2 apresenta a classificação dos compostos fenólicos.

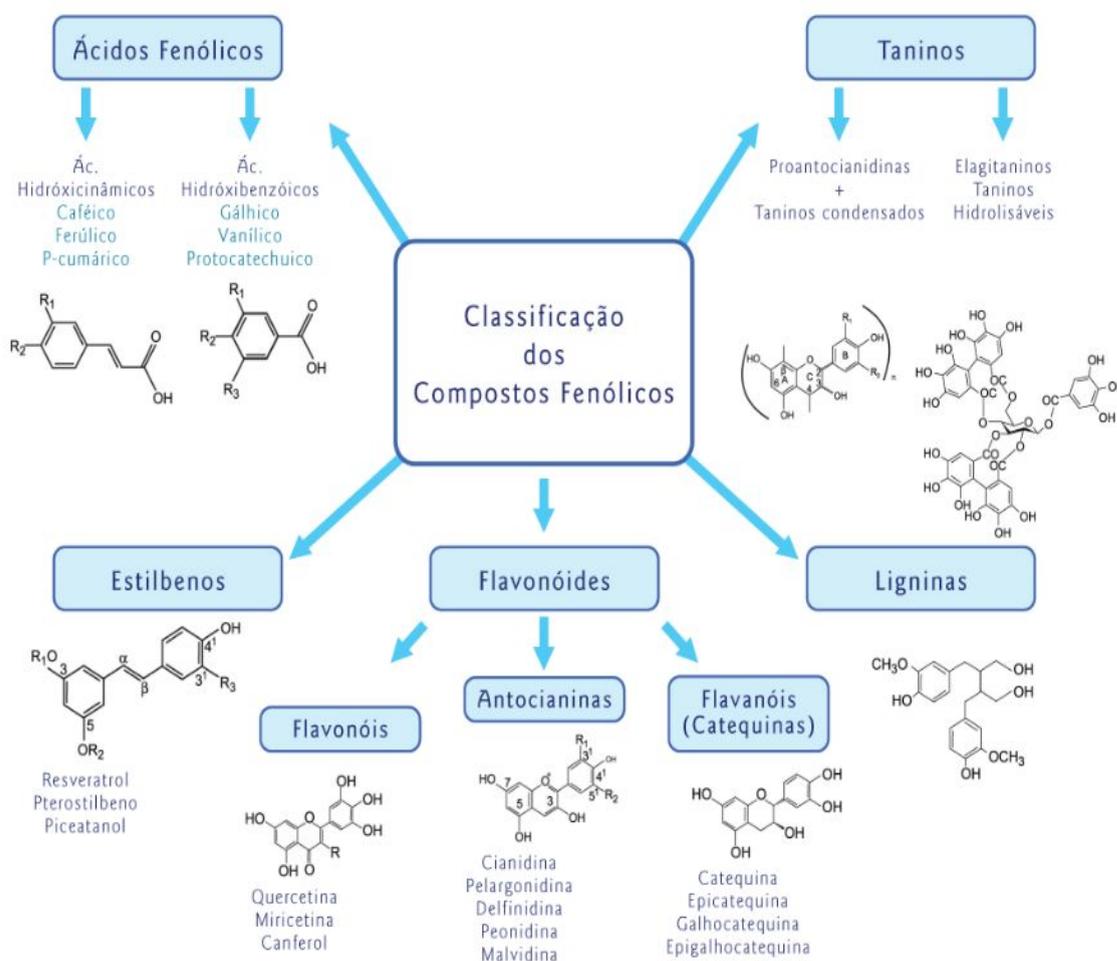


Figura 2: Classificação dos compostos fenólicos

Fonte: Paredes-López et al., 2010

2.2.4 FLAVONÓIDES

São compostos de baixo peso molecular, consistindo em 15 átomos de carbono, organizados na configuração $C_6 - C_3 - C_6$ (ANGELO, JORGE 2007). Segundo Ribani e Amaya (2008), constituintes de um grupo de moléculas diversas, os flavonóides possuem dois anéis aromáticos, sendo conectados por um anel pirano, sendo subdivididos em seis principais subgrupos: isoflavonas, antocianinas, flavanonas, flavanóis ou catequinas, flavonóis e flavonas. Sendo os flavonóis os predominantes nas frutas vermelhas, onde estão dispostos de forma natural. Os flavonóides são formados da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina (via metabólica do ácido chiquímico) e ácido acético.

Os flavonóides, principalmente antocianinas e flavonóis, atuam nas plantas atraindo polinizadores e disseminadores de sementes (RIBANI; AMAYA, 2008) Segundo Lopes et al. (2000), apesar da síntese dos flavonóides não ocorrer na espécie humana, existe uma variedade de propriedades farmacológicas que proporcionam sua atuação em sistemas biológicos. Destacam-se dentre estas atividades a capacidade antioxidante, anti-inflamatórias, antialérgicas, efeitos vasodilatadores, anti-ulcerogênica, ações anti-plaquetária, antimicrobianas e antivirais.

Segundo Degáspari, Waszczynskyj (2004), os flavonóides têm sua distribuição diversificada, dependendo da família, ordem e variação da espécie, fatores como o grau de acesso a luminosidade, em especial raios ultravioleta, também afetam sua distribuição

2.2.5 ANTOCIANINAS

A palavra antocianina deriva do grego, onde *anthos* significa flor e *kianos* quer dizer azul, as antocianinas são pigmentos vegetais hidrossolúveis responsável por uma abundante variedade de cores, encontradas normalmente em frutos, flores, algumas raízes, caules e folhas. Elas também desempenham funções antioxidantes, proteção contra a luminosidade excessiva além de seu uso industrial como corante, devido a isso há diversos estudos que apontam seu funcionamento benéfico à saúde humana através de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, isso ocorre devido à capacidade que elas possuem de doar hidrogênios ou elétrons aos radicais livres (LOPES, et al., 2007; CORREIA, 2016; VIZZOTO, 2012).

Segundo Vizzoto (2012), há mais de 600 tipos de antocianinas, e essa diversidade se dá ao tipo de açúcar que é ligado as agliconas, dentre os que comumente são encontrados destacam-se a glicose, ramnose, galactose, xilose e arabinose.

As antocianinas são caracterizadas pelo núcleo básico flavílio (cátion flavílico), que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos condensados por um oxigênio, além do núcleo básico, uma ou mais de suas hidroxilas são ligadas aos açúcares (R') (LOPES et al., 2007).

As antocianinas variam suas estruturas devido ao pH, este que é responsável pela variedade de cores presentes nas frutas. Para a representação da cor avermelhada, o pH deve estar ácido, ente 1 e 2. Quando o pH apresenta-se entre 2 e 6 a coloração vai ficando menos aparente, tendendo ao incolor, devido a oxidação da estrutura do vermelho e formação pseudobase carbinol. Quando ocorre presença da coloração violeta e azul, há formação de anidrobases, e o pH deve se apresentar entre 6,5 e 8 para violeta e entre 9 e 12 para o azul. Quando o pH tem números superiores a 12, a coloração aparente é amarelada, isso é devido a formação de chalconas pela quebra do anel heterocíclico. Assim, podemos dizer que o meio ácido promove a conservação das antocianinas, devido ao fato dos ácidos orgânicos protegem o cátion flavilium presente na água (MEREALLI, 2017; PALUDO, 2013).

Possuem uma polaridade alta, por conter açúcares ligado ao seu anel aromático e também pela presença de grupos hidroxilas, carboxilas e metoxilas, devido a isso temos um melhor rendimento na extração quando são utilizados solventes com alta polaridade, como a água, metanol e etanol (PALUDO, 2013).

2.3 PROCESSO EXTRATIVO

A extração é uma operação físico-química de transferência de massa, onde os sólidos solúveis e voláteis podem ser extraídos por manter-se contato entre o solvente e os sólidos (CLARK, 1985).

A extração de compostos de plantas é diretamente influenciado pelas condições em que esta for realizado. Fatores como a temperatura, solvente utilizado e agitação são deveras importantes, tal como as características da matriz vegetal que será realizada a extração. Sendo assim, o rendimento da extração de produtos naturais não pode ser previsto facilmente pois

cada sistema material-solvente comporta-se de forma peculiar, dependendo das estruturas químicas do solvente e também da estrutura e composição da matriz vegetal (WONGKITTIPONG et al., 2004; PINELO et al., 2004).

2.3.1 EXTRAÇÃO SÓLIDO LÍQUIDO

O princípio para extração sólido-líquido ou extração com solvente ocorre quando os compostos solúveis de uma matéria sólida são extraídos por um solvente líquido (AGUILERA, 2003).

Segundo Gamse (2002), na extração sólido-líquido o solvente penetra nos capilares da matriz e dissolve seu extrato, obtendo assim uma solução de elevada concentração. Devido a difusão, ocorre uma diferença da concentração entre a solução que cerca as partículas e a solução do material da extração. O autor ainda afirma que praticamente nenhuma extração completa é possível, devido ao fato que no final do processo ainda é retido nas partículas uma quantidade de solução (solvente e mais soluto extraído).

De acordo com Mogensen (1982), para a escolha do melhor solvente alguns fatores devem ser levados em conta, como a seletividade (a capacidade que o solvente tem de extrair o soluto), densidade (a diferença da densidade das fases facilitará o processo extrativo), viscosidade (alta viscosidade do solvente reduz a taxa de transferência de massa, influenciando o grau e a taxa da extração), além claro do custo do solvente.

3. METODOLOGIA

3.1 MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Para avaliar a influência do método de extração sobre teor de flavonoides (antocianinas obtidas a partir dos frutos da framboesa), foram realizadas três diferentes métodos de extração com quatro diferentes solventes estas foram submetidas à quantificação e posterior comparação através dos métodos de pH Único e pH Diferencial, estes adaptados a partir das técnicas descritas por Fuleki & Francis (1968).

Segundo Favaro (2008), o método do pH diferencial, se fundamenta nas transformações que ocorrem nas antocianinas de acordo com a variação do pH, pois em diferentes pHs, há diferentes colorações e essas correspondem às diferentes estruturas .

As framboesas foram descongeladas de forma natural, em temperatura ambiente e lavadas em água corrente, para então iniciar o processos de extração. A concentração de fruta/solvente foi realizada na proporção de 1:3. O preparo das amostras das frutas para a análise foi realizado como segue.

a) Pesadas 26 g da fruta inteira para realizar em seguida a maceração, com auxílio do almofariz e pistilo. Após a maceração as mesmas foram transferidas para um snapcap e imersas em 80 mL de acetona PA.

b) Pesadas 26 g da fruta inteira para realizar em seguida a maceração, com auxílio do almofariz e pistilo. Após a maceração as mesmas foram transferidas para um snapcap e imersas em 80 mL de etanol.

c) Pesadas 26 g da fruta inteira para realizar em seguida a maceração, com auxílio do almofariz e pistilo. Após a maceração as mesmas foram transferidas para um snapcap e imersas em 80 mL de água deionizada com temperatura de 25 °C.

d) Pesada 26 g da fruta inteira para realizar em seguida a maceração, com auxílio do almofariz e pistilo. Após a maceração as mesmas foram transferidas para um snapcap e imersas em 80 mL de 1% de ácido cítrico em temperatura de 25 °C.

As amostras então seguiram diferentes metodologias e tempos de repouso:

a) as amostras foram envoltas em papel para ficarem ao abrigo da luz, e colocadas no refrigerador a 5°C por 24 horas para melhor extração da

antocianina, e assim dando continuidade às análises, após repouso de 24 horas.

- b) As amostras foram postas em agitação por duas horas em mesa agitadora modelo Oxylab em uma frequência de 100 rpm.
- c) As amostras foram postas em repouso por 1 hora em abrigo de luz.

Após os tempos de repouso as amostras foram submetidas a filtração por gravidade, com auxílio de funil e papel filtro, em seguida foram submetidas as leituras de pH. Para a quantificação e posterior comparação foram utilizados os métodos de pH Único e pH Diferencial, estes adaptados a partir das técnicas descritas por Fuleki & Francis (1968a, 1968b).

Para o método para pH Único consistiu da transferência quantitativa de uma alíquota (VAIq) de 5 mL do Extrato Concentrado (EC) (100 mL de solução – amostra mais Solução Extratora), para um copo descartável transparente de 50 mL e acrescentado 5 mL de solução Etanol 95% – HCl 1,5N (85/15), formando dessa maneira o Extrato Diluído (ED), no total de 10ml. Os valores de absorvância (DO) foram então contrastados com os valores dos brancos (Solução Etanol- HCL 1,5N (85:15)). O cálculo do teor de Antocianinas Totais (AntT) por 100 gramas da amostra avaliada será efetuada de acordo com a Equação 01.

No segundo momento foi realizado o método de pH Diferencial, para o pH 1,0 houve a transferência quantitativa de uma alíquota (VAIq) de 5 mL do Extrato Concentrado, para um copo descartável transparente de 50 mL e então foi acrescentado mais 20 mL de solução KCl (0,2 N) e HCl (0,2N) na proporção 25:67, formando um Extrato Diluído de 25 mL. Para o pH 4,5 o Extrato Diluído foi no total de 10 mL (5 mL de alíquota Extrato Concentrado mais 5 mL de Acetato de Sódio (1N), HCl e Água na proporção 100:60:90). O cálculo do teor de Antocianinas Totais (AntT) por 100 gramas da fração avaliada será obtido de acordo com a equação 01, adaptando-se o valor de DO para a diferença de leitura entre os dois pHs.

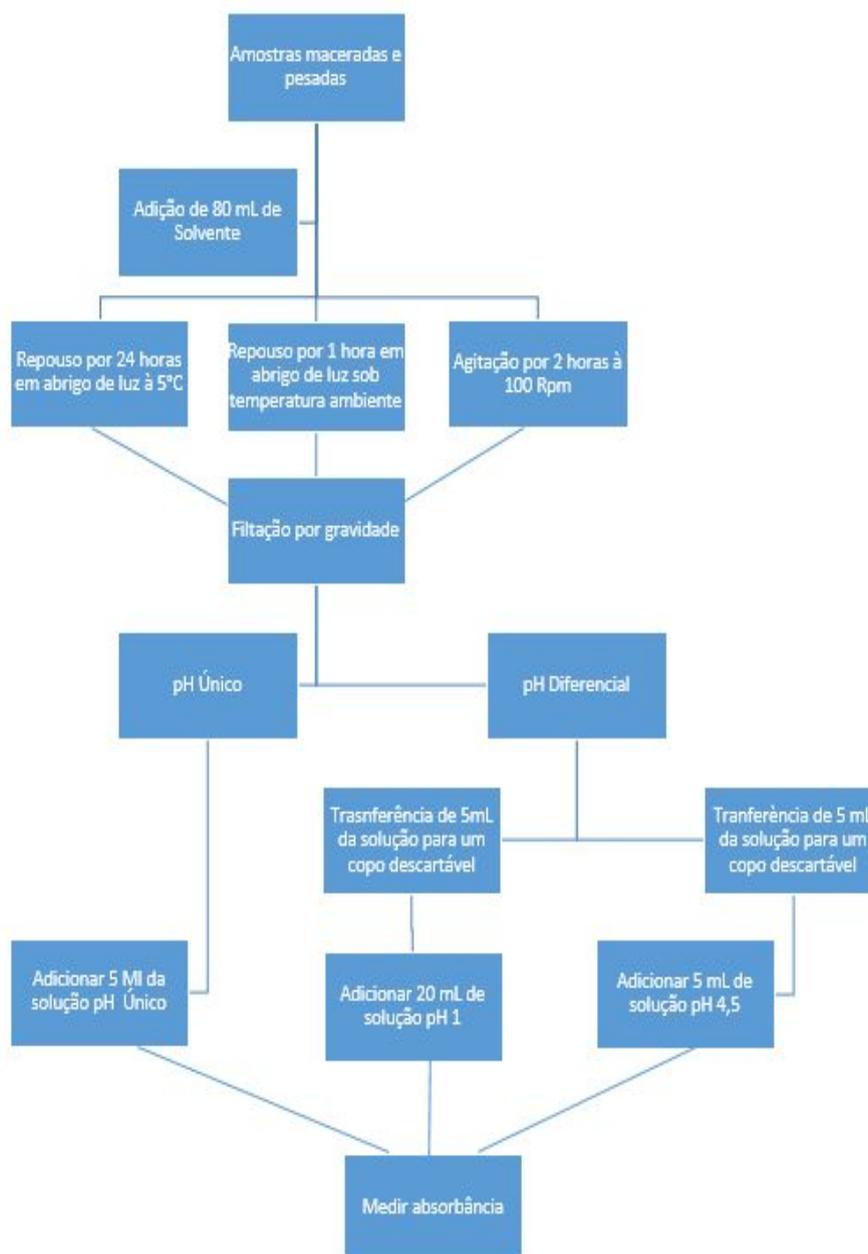


Figura 03: Fluxograma do processo de extração.

Fonte: Autora, 2019.

Após as extrações utilizando diferentes solventes e metodologias, foi então possível realizar a leitura espectrofotométrica, esta realizada em triplicata, em comprimento de onda de 535 nm. A quantificação dos teores de antocianinas totais (Ant-T) presentes nos extratos hidroalcoólicos foi realizada segundo a equação abaixo.

Equação 1: Cálculo do teor de Antocianinas Totais (Ant-T)

$$AntT_{mg\ Ant/100g\ Amostra} = \frac{\frac{DO \times V_{Ec} \times V_{Ed} \times 100}{V_{Alq} \times m}}{\frac{E_{1cm}^{1\%}}{10}} = \frac{DO \times V_{Ec} \times V_{Ed} \times 100}{V_{Alq} \times m \times E_{1cm}^{1\%}}$$

Onde:

DO*: Densidade ótica do extrato diluído 535 nm

pH Único: Medida direta da DO no espectrofotômetro

pH Diferencial: Diferença entre a DO nos pH's 4,5 e 1,0.

VEc: Volume total do extrato concentrado (mL)

VEd: Volume total do extrato diluído (mL)

Valq: Volume da Alíquota do Extrato Primário a ser diluída para fazer o Extrato Secundário (mL)

m: Massa da amostra (g)

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

E 1% 1cm: 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 873 e 775 respectivamente para os pHs 1,0 e 4,5.

Os valores da DO utilizados para o cálculo foi obtido pela média das três repetições da leitura espectrofotométrica.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 RESULTADOS OBTIDOS DA ABSORBÂNCIA

A tabela 01 apresenta os resultados das absorvâncias obtidos das médias de três repetições em comprimento de onda de 535 nm, para as amostras em repouso por 24 horas sob refrigeração de 5°C e abrigo de luz.

Tabela 01: Valores médios e desvio padrão das absorvâncias obtidas em espectrofotometria das amostras em repouso por 24 horas, sob refrigeração.

Solvente utilizado na extração	Absorvância pH 1,0	Absorvância pH 4,5	Absorvância pH Único (2,0)
Acetona P.A	792,3 ± 0,02	1034,6 ± 0,01	1193,6 ± 0,01
Etanol 99,5%	624,7 ± 0,01	886,4 ± 0,02	918,5 ± 0,01
Água deionizada	295,4 ± 0,02	469,3 ± 0,03	973,2 ± 0,03
Ácido cítrico 1%	329,5 ± 0,03	667,5 ± 0,02	1133,6 ± 0,02

Somente com as leituras foi possível verificar que a acetona P.A foi o solvente que obteve maior desempenho em todos os métodos, e que os maiores índices de absorvância foram encontrados diante do método de pH Único. Com menores absorvâncias obtidas temos os resultados de pH 1,0, onde a água deionizada foi a que obteve menos índices de absorvância em todos os pHs. Seguido da absorvância apresentada pelo ácido cítrico com concentração de 1% mediante a pH 1,0.

Os resultados expressos na tabela 02 são referentes os valores das três repetições das absorvâncias em comprimento de onda de 535 nm, para as amostras em repouso por 1 hora à temperatura ambiente e abrigo de luz.

Tabela 02: Valores médios e desvio padrão das absorvâncias obtidas em espectrofotometria das amostras em repouso por 1 hora em abrigo de luz.

Solvente utilizado na extração	Absorvância pH 1,0	Absorvância pH 4,5	Absorvância pH Único (2,0)
Acetona P.A	942,6 ± 0,07	1031,3 ± 0,02	1141,5 ± 0,03
Etanol 99,5%	877,5 ± 0,02	1040,4 ± 0,03	956,6 ± 0,05
Água deionizada	304,3 ± 0,04	283,5 ± 0,02	636,2 ± 0,02
Ácido cítrico 1%	321,6 ± 0,05	428,2 ± 0,03	596,7 ± 0,02

Os valores das médias e desvio padrão das absorvâncias acima nos mostram que novamente os valores com maior absorvância foram encontrados diante pH Único e que neste método diante do pH 4,5 o etanol 99,5% foi superior a acetona P.A. Com menor rendimento tivemos água deionizada mediante pH 4,5.

Os valores referentes as absorvâncias das amostras expostas a agitação por 2 horas à 100 rpm estão dispostas na tabela 03.

Tabela 03: Valores médios e desvio padrão das absorvâncias obtidas em espectrofotometria das amostras em agitação por 2 horas à 100 rpm.

Solvente utilizado na extração	Absorbância pH 1,0	Absorbância pH 4,5	Absorbância pH Único (2,0)
Acetona P.A	763,3±0,04	910,5±0,02	1200,9±0,03
Etanol 99,5%	758,6±0,02	1025,8±0,04	1061,2±0,04
Água deionizada	325,7±0,03	458,2±0,06	868,5±0,06
Ácido cítrico 1%	371,5±0,05	551,3±0,04	1111,3±0,02

Novamente é verificado os maiores índices de absorbância mediante a metodologia de pH Único, isso pode ser explicado segundo Bordignon et al. (2009), que diz que a mudança nos máximo de absorção deve-se às reações de equilíbrio que ocorrem com o cátion flavilium, quando se eleva o pH do meio. Essas reações levam a uma configuração estrutural das antocianinas em que, quanto maior for o pH irá ocorrer uma diminuição do número de ligas duplas conjugadas, que são responsáveis pelo aumento nos máximos de absorção das substâncias, pela protonação do cátion flavilium.

Também podemos verificar que mediante a interferência de temperatura ocorre degradação das antocianinas, como apresentado por Lopes et.al., (2007), a temperatura é outro fator importante na estabilidade das antocianinas porque à medida que se submete a solução de antocianinas a uma temperatura superior à ambiente (25°C), a sua degradação é maior. O autor ainda reforça que esta degradação é ainda mais acentuada quando se aumenta o pH do meio.

No método Diferencial pH 1,0, a solução de KCl (0,2 N) com HCl (0,2N) segundo Teixeira; Stringheta; Oliveira (2008) forma complexação com as estruturas de antocianinas e causa mudança na coloração da solução como foi verificado nas amostras apresentadas nas imagens abaixo.



Figura 04: Coloração Ph 1,0

Fonte: Autora, 2019.

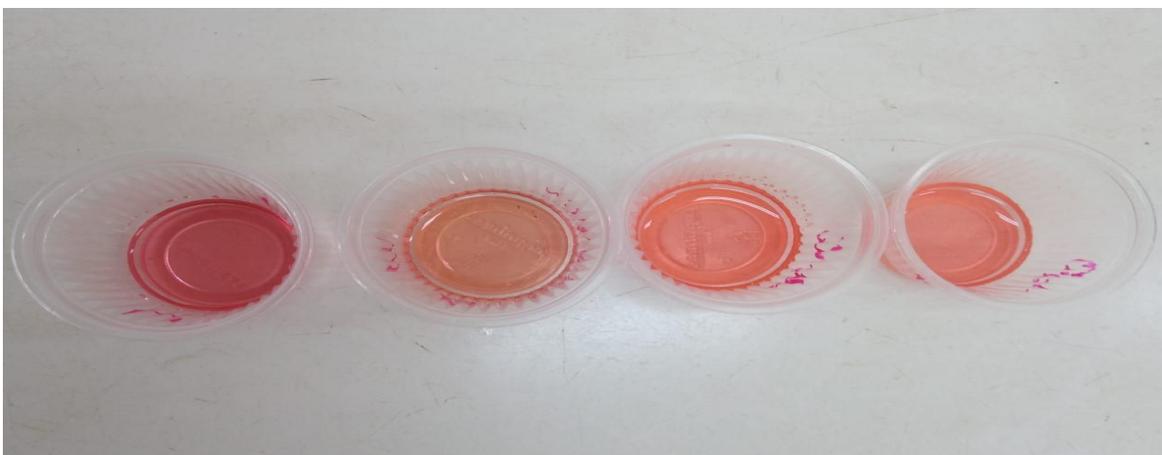


Figura 05: Coloração Ph 4,5

Fonte: Autora, 2019.



Figura 06: Coloração Ph único 2,0.

Fonte: Autora, 2019.

Entretanto a quantificação direta de antocianinas a partir de medidas de absorvância em UV-VIS não é trivial, pois seus espectros são muito semelhantes, com intensa sobreposição. Devido a isso é importante a realização de cálculos para a obtenção de teores de antocianinas totais em mg em 100g de amostra. Os cálculos de pH Único e pH Diferencial são comumente utilizados por serem considerados os métodos tradicionais, o desempenho no método pH Diferencial é dado pela subtração dos resultados obtidos das densidades ópticas do pH 4,5 e pH 1,0 respectivamente. para a realização dos cálculos. Como expressam as tabelas a seguir.

Tabela 04: Teores de antocianinas totais das amostras em repouso de 24 horas sob refrigeração à 5°C.

Solvente utilizado na extração	Desempenho pH Diferencial	Desempenho pH Único
Acetona P.A	35,95	46,74
Etanol 99,5%	24,79	35,97
Água deionizada	9,24	38,32
Ácido cítrico 1%	2,68	44,39

Os teores de antocianinas totais em repouso de 24 horas sob refrigeração variam de 2,68 a 46,74 mg por 100g de amostra. Sendo a acetona P.A o solvente com maior extração em ambas metodologias, já o solvente com menor rendimento foi o ácido cítrico em pH Diferencial.

A tabela 05 expressa os valores obtidos dos teores de antocianinas totais obtidos das amostras que foram expostas a repouso de 1 hora em temperatura ambiente em abrigo de luz.

Tabela 05: Teores de antocianinas totais das amostras em repouso de 1 hora sob abrigo de luz em temperatura ambiente.

Solvente utilizado na extração	Desempenho pH Diferencial	Desempenho pH Único
Acetona P.A	52,62	44,7
Etanol 99,5%	45,01	37,46
Água deionizada	19,46	24,92
Ácido cítrico 1%	14,14	23,36

Em repouso por 1 hora as amostras que apresentaram maior desempenho foram a extração a base de acetona P.A, e etanol 99,5 % respectivamente, mediante desempenho pH Diferencial e Único. O solvente com menor extração foi verificado o ácido cítrico 1% em ambos pHs.

Os valores de antocianinas totais das amostras expostas a agitação por 2 horas a uma frequência de 100 rpm estão dispostos na tabela 06.

Tabela 06: Teores de antocianinas totais das amostras em agitação por 2 horas a 100 rpm.

Solvente utilizado na extração	Desempenho pH Diferencial	Desempenho pH Único
Acetona P.A	38,91	47,01
Etanol 99,5%	32,65	41,57
Água deionizada	13,11	34,01
Ácido cítrico 1%	13,55	43,53

A acetona P.A se repete como melhor solvente também sob agitação em ambos métodos de quantificação.

Os teores obtidos de antocianinas totais em sua maioria se enquadra nos obtidos por Howard & Hager (2007), onde foram relatados teores de antocianinas entre $22,4 \pm 0,2$ e $49,1 \pm 7,8$ mg por 100 g amostra. E também se enquadram nos valores obtidos por Soutinho et. al., (2013), mostram valores de 10,00 a 40,00 mg por 100g. Entretanto é percebida uma diferença muito significativa no desempenho entre os pHs. De acordo com Campos (2006), esta diferença ocorre pois o pH Diferencial correlaciona os produtos de degradação das antocianinas (pH 4,5) com a concentração das antocianinas presentes no extrato (pH 1,0). Assim este método nos apresenta apenas a concentração de antocianinas, sem interferentes, esses ainda segundo o autor são polifenólicos, açúcares, ácidos ou mesmo as antocianidinas. O autor ainda afirma que a quantificação de antocianinas em extratos de fruta ou vegetais frescos geralmente há poucos componentes interferentes. Desta forma podemos explicar o baixo desempenho devido as frutas para a realização das extrações estarem submetidas à anterior congelamento, ocasionando a degradação das mesmas.

Em relação aos solventes utilizados, é importante ressaltar que antocianinas são moléculas polares devido à presença de grupos substituintes (hidroxilas, carboxilas e metoxilas) e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos. Conseqüentemente, quanto maior for a polaridade do solvente maior será seu potencial extrativo. Desta forma fica claro a compatibilidade das antocianinas com os solventes utilizados neste experimento, tendo em vista que em todos os solventes houve um percentual de extração satisfatório, com destaque para as extrações utilizando acetona P.A e etanol 99,5%.

Foi observado também que quando as amostras foram expostas a refrigeração de 24 horas não foi identificado teores significativos de degradação, pois baixas temperaturas protegem as estruturas químicas das antocianinas. Estas variações da estrutura química que segundo Patras et al., (2010) ocorrem principalmente devido a diferenças no número de hidroxilas presentes nos grupos da molécula, onde a degradação é decorrida da oxidação,

clivagem da ligação covalente ou as reações avançadas de oxidação devido ao processamento térmico.

Os valores obtidos foram posteriormente submetidos a teste de variância (ANOVA), onde através do teste, é mostrado por meio do gráfico abaixo, que o melhor extrator é a acetona P.A, em todas as metodologias, tanto para o pH Diferencial como para o pH Único.

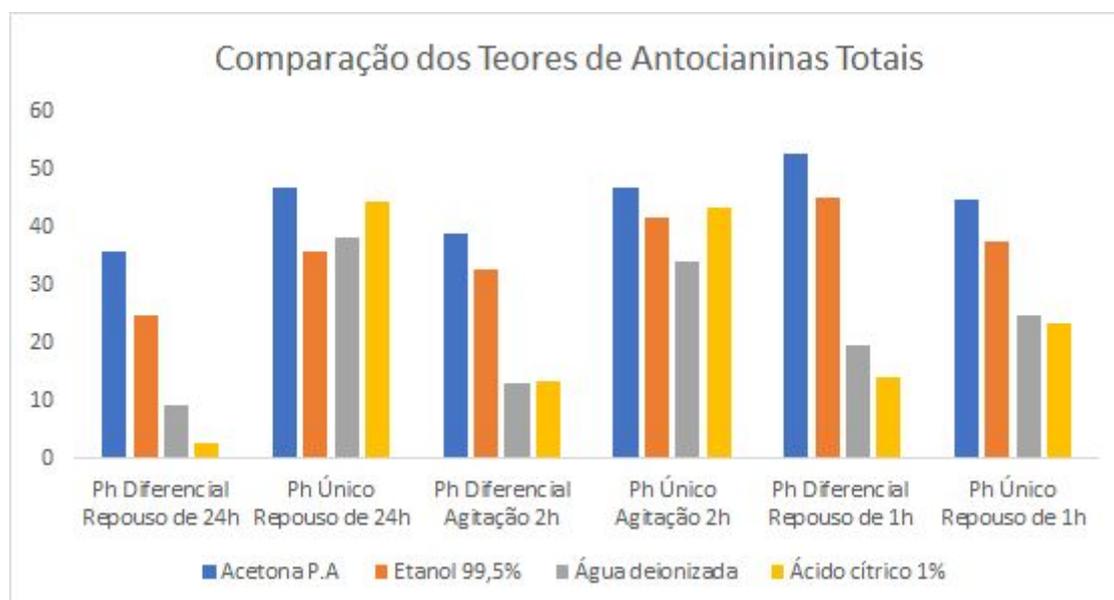


Gráfico 01: Comparação dos Teores de Antocianinas Totais

5. CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos, com os cálculos de Ant-T, é possível verificar que as extrações realizadas com acetona apresentam os melhores rendimento em todas as metodologias de extração. Na sua quantificação, os valores expressos pelo método pH Único e pH Diferencial, variam de 35,95 a 52,62 mg/100g amostra. O melhor resultado foi a extração com repouso de uma hora em temperatura ambiente. O etanol 99,5% também obteve bons resultados nas extrações realizadas com melhor rendimento em repouso de 1 hora em temperatura ambiente, sendo assim se o resultado esperado for um melhor rendimento sem levar em conta a toxicidade é indicado o uso dos solventes citados acima.

Os extratores que tiveram variância significativa nos teores de antocianinas totais foram ácido cítrico e água deionizada, os valores variam de 2,68 a 44,39 e 9,24 a 43,53 respectivamente. Sendo assim, se o objetivo for uma extração com menor índices de toxicidade é aconselhado o uso destes solventes expostos a agitação.

6. REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J.M. **Solid-Liquid extraction**. In: TZIA, C.; LIADAKIS, J. *Extraction Optimization in Food Engineering*, CRC Press, 2003. cap. 2, p.35-53.
- ÂNGELO, P. M.; JORGE, N.; **Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão**. São José do Rio Preto SP. 2006.
- ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Decreto no 50040, de 24 de janeiro de 1961.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. **Phenolic compounds in plants and adri-industrial by products: antioxidant activity occurrence, and potential uses**. *Food Chemistry*, Barking, v. 99, n. 1, 2006.
- BORDIGNON JR. C. L.; FRANCESCATTO V.; NIENOW A. A.; CALVETE E.; REGINATTO F. H. **Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango**. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, v..29, n.1, jan/mar, 2009.
- BORGES G, DEGENEVE A, MULLEN W, CROZIER A. **Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries**. *J. Agric. Food Chem.* 2010.
- BOTREL, N. **Sistemas de armazenamento**. In: SPAGNOL, W. A.; ROCHA, J. L. V.; DA PARK, K. J. *Pré-resfriamento de frutas e hortaliças*. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 17, n. 180, 1994.
- BRAVO, L. **Polyphenosl: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance**. *Nutritional Review*, v. 56, n.11, 1998.
- BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. **Anthocyanins as natural food colours-selected aspects**. *Food Chemistry*, vol. 58, n.1-2, 1997.
- CANTILLANO, R.F.F.; ROSSI, A.D; GOULART, C.; RIBEIRO, J.A.; VILELA, J.S. ; **Avaliação de qualidade pós-colheita e armazenamento refrigerado em cultivares de framboesa**. *Boletim de pesquisa e Desenvolvimento* 294. Embrapa Clima Temperado. 2018.
- CAMINITI, A.; SILVEIRA, C.A.P.; ANTUNES, L.E.C.; POTES, M.L.; PAGOT, E.; **Técnicas de Produção de Framboesa e Mirtilo**. Embrapa. Brasília, 2016.
- CASA, R. T.; JUNIOR P. R. K.; , BOLZAN J. M.; BOGO, A.; KRETZSCHMAR A. A.; , RUFATO, L.; DE MACEDO T. A.; **Ferrugem em framboesa no estado de Santa Catarina**. *Rev. Bras. Frutic.* 2010, vol.32, n.3, 2010.
- CAMPOS, D. D. P.; **Extração, Purificação e Isolamento de Antocianinas de Jabolão (Syzygium cuminii) e Avaliação dos seus Efeitos Biológicos**. 2006. 121p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química. Departamento de Química Analítica. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 2006.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B.; **Pós colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: ESALQ/FAEPE, 2005.

CLARK, N. A. **Surface memory effects in liquid crystals: Influence of surface composition**. Physical Review Letter, v.55, p.292 - 295, 1985.

CORREIA, M. M. M. B. C.; **Caracterização química e avaliação da atividade biológica da framboesa (Rubus idaeus L). Contribuição para o desenvolvimento de uma alegação de saúde**. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia 2016.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos**. Visão Acadêmica, Curitiba, v. 5, n. 1, Jan.- Jun./2004.

Dicionário Visual das Plantas, **Morfologia da Framboesa**. Editora Verbo. 1993, Editorial Ver

FAGUNDES, P. R. S.; **Mercado e Comercialização de Amora, Mirtilo e Framboesa**. Análises e Indicadores do Agronegócio, v. 2, n. 12, 2007.

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

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z.; **Compostos Bioativos Presentes na Amora Preta (Rubus spp.)**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 3, p. 664-674, Setembro 2010.

FAO – **Organização para as Nações Unidas para Agricultura e Alimentação**. 2012.

FAO – **Organização para as Nações Unidas para Agricultura e Alimentação**. 2013.

FULEKI, T.; FRANCIS, F.J. **Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in Cranberries**. Journal of Food Science, Chicago, v.33, n.1, p.72-77, 1968.

GAMSE, T. **Liquid-liquid extraction and solid-liquid extraction**. Institute of Thermal Process and Environmental Engineering, Graz University of Technology. 2002.

GUIMARÃES, I. C.; **Tecnologias para conservação e processamento de framboesa (Rubus idaeus)**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2012.

HALLIWEL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; **The definition and measurement of antioxidants in biological systems**. Free Radical Biology and Medicine V. 18, Issue 1, January 1995.

- HOWARD, L.R.; HAGER, T.J. Berry fruit phytochemicals. In: ZHAO, Y. **Berry fruit: value-added products for health promotion**. Boca Raton: CRC Press, p.73-104. 2007.
- KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; PELIZZA, T. R. **Pequenas Frutas**. Florianópolis: UDESC. 1º edição. 2013.
- LAGUERRE, M.; LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. **Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges**. Review. Progress in Lipid Research, v. 46, 2007.
- LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. da S. **Flavonoides Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais**. Biotecnologia Ciência e desenvolvimento, 2000.
- LOPES, T.; XAVIER, M.; QUADRI, M.G.; QUADRI, M. **Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade**. Revista Brasileira de Agrociência, v.13, n.3, 2007.
- MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. **Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants**. Food Chemistry, London, v. 100, 2007.
- MARTÍNEZ-FLÓREZ S.; GONZÁLEZ-GALLEGO J.; CULEBRAS J.M.; TUÑÓN M.A.J.; **Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes**. Nutrición Hospitalaria 2002.
- MEREGALLI, M. M.; **Estudo Comparativo de Diferentes Métodos de Extração de Compostos Bioativos da Casca do Araça- Vermelho (Psidium cattleianum Sabine)**. Dissertação de Mestrado. Erechin, RS, 2017.
- MESSIAS, K. L. S.; **Antioxidantes na natureza**. Food Ingredients Brasil, N°6, 2009
- MOGENSEN, A. O. **Choise of solvent in extraction**, In: AIChEMI modular instructions: Series B, Stagewise and mass transfer operations. New York: American Institute of Chemical Engineers, 1982.
- MULLEN W.; YOKOTA T.; LEAN M.E.J, CROZIER, A.; **Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC-MSn**. Phytochemistry 2003.
- OLIVEIRA, P. B. de; FONSECA, L. L. da. **Framboesa Tecnologias de produção**. DIVULGAÇÃO AGRO 556 N° 3. 2007.
- PAGOT, E.; **Diagnóstico de produção e comercialização de pequenas frutas**. Seminário Brasileiro de Pequenas Frutas , 2. Vacaria. Anais. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004.

PAGOT, E.; **Cultivo de pequenas frutas: amora-preta, framboesa e mirtilo**. Porto Alegre, EMATER/RS-ASCAR, 2006.

PALUDO, M. C.; **Estudo da Capacidade Antioxidante (in vitro), Quantificação das Antocianinas e Compostos Fenólicos Totais da Jabuticaba Sabará Myrciaria jabuticaba (Vell.) O. Berg e Sua Geléia**. Dissertação de mestrado. Campinas, SP, 2013.

PAREDES-LÓPEZ O, CERVANTES-CEJA M.L, VIGNA-PÉREZ M, HERNÁNDEZ-PÉREZ T. **Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life- A review**. Plant Foods Hum Nutr. 2010.

PATRAS, A; Brunton, NIGEL, N. P; O'DONNELL, C; BRIJESH, K. T. **Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods: Mechanisms and kinetics of degradation**. Trends in Food Science and Technology. 2010.

PINELO, M; RUBILAR, M; SINEIRO, J; NUNEZ, M. J. **Extração de fenólicos antioxidantes de casca de amêndoa (Prunus amygdalus) e serragem de pinheiro (Pinus pinaster)**. Revista Brasileira de Zootecnia 22 (2), 267-273, 2004.

POURCEL L, ROUTABOUL JEAN-MARC, CHEYNIER V, LEPINIC L, Debeaujon. **Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions**. Trends in Plant Science 2006.

PRITTS, M. P.; **Raspberries and related fruits**. In Caballero, B, Encyclopedia of food science and nutrition. Kent Academic, 2009.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos**. Química Nova, v.29, n.4, 2006.

RASEIRA, M.C.B.; GONÇALVES, E. D. G.; TREVISAN, R.; ANTUNES, L. E. C.; **Aspectos técnicos da cultura da framboeseira**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Documentos, 120, 2004.

RIBANI, H. R.; AMAYA, D. B.R.; **Otimização de métodos para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta**. QUIM NOVA VOL 31, N 6. 2008.

ROSS J. A.; KASUN C.; M. **Dietary Flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety**. Annu. Rev. Nutr. 2002.

SEERAM, N. P.; ADAMS, L. S.; ZHANG, Y.; LEE, R.; SAND, D.; SCHEULLER, H. S.; HEBER, D. **Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 54, 2006.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S; KOBLITZ, M.G.B. **Compostos fenólicos,**

carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. Semana: Ciências Agrárias, v. 31, n. 3, 2010.

SOUSA, M. B.; CURADO, T.; VASCONCELLOS, F. N.; TRIGO, M. J.; **FRAMBOESA – QUALIDADE PÓS-COLHEITA.** Folhas de Divulgação AGRO 556 Nº 6, 2007.

SOUTINHO, S. M. A.; GONÇALVES, S.; JORDÃO, A. M.; GUINÉ, R. P. F.; **Evolução dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante durante a maturação de frutos vermelhos (framboesa, groselha e mirtilo) de produção biológica.** Conference: VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas, At Madrid, Espanha. 2013.

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

ULIANA, J. V. T.; KLUGE, R. A.; **Framboesa: cultura alternativa para pequenas propriedades rurais em regiões subtropicais.** Série produtor Rural Nº 55, Piracicaba, 2013.

VIZZOTTO, M. **Propriedades funcionais de pequenas frutas.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.33, n.268, maio/jun. 2012.

WONGKITTIPONG, R.; PRAT, L.; DAMRONGLERD, S.; GOURDON, C. **Solid-liquid extraction of andrographolide from plants-experimental study, kinetic reaction and model.** Separation and Purification Technology, v.40, p.147-154, 2004.

