

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ANTOCIANINAS DE REPOLHO ROXO (*Brassica oleracea* var. *capitata rubra*)

Luan Rezende Peccini¹, Viviane dos Santos Marques¹, Rafaela Venancio Flores², Pollyanna Ibrahim Silva³, Kamila Ferreira Chaves¹, Adilson Vidal Costa¹, Wagner Tebaldi de Queiroz¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/Departamento Química e Física, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, luan.peccini@gmail.com, demarquesvivi@gmail.com, kamila.chaves@ufes.br, avcosta@hotmail.com, wagner.queiroz@ufes.br.

²Instituto Euvaldo Lodi, Rua Surubim, 504, Brooklin Novo - 04571-050 - São Paulo-SP, Brasil, rafavenacio2@gmail.com.

³Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/Departamento de Engenharia de Alimentos, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, pollyanna.silva@ufes.br.

Resumo

As antocianinas são flavonóides responsáveis pelas colorações vermelha, azul e púrpura em diversas flores e frutos. O repolho roxo (*Brassica oleracea* var. *capitata rubra*) detém elevada concentração de antocianinas, tornando-se uma matéria-prima apropriada para extração deste corante natural. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de extração (30, 60 e 180 min) sem ou com a presença de ultrassom para a obtenção de antocianinas a partir do repolho roxo. Os resultados revelaram que a exposição ao banho ultrassônico (27 ± 3 °C) durante o período de 30 min contribuiu para a obtenção do maior teor de antocianinas. Essas constatações demonstram o significativo potencial da extração assistida por ultrassom para a obtenção de antocianinas provenientes do repolho roxo em comparação com o aquecimento convencional.

Palavras-chave: Método de extração. Ultrassom. Análise diferencial pH.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra (Química)

Introdução

As antocianinas representam uma classe de flavonóides, pigmentos naturais solúveis em água, e amplamente presentes nos vacúolos de flores, frutos, caules e folhas das plantas (ALVAREZ-SUAREZ *et al.*, 2021). Além de um espectro de cores brilhantes e estrutura química complexa, essas substâncias têm atraído interesse do meio científico por seus potenciais benefícios à saúde. Estudos têm revelado que as antocianinas exibem uma variedade de atividades biológicas, entre elas, anti-inflamatórias, neuroprotetoras, antiobesidade, antioxidantes, antidiabéticas, anticancerígenas e cardioprotetoras (PERTUZATTI *et al.*, 2016; JIAO *et al.*, 2018; GARG *et al.*, 2022).

O repolho roxo é valorizado pelos consumidores devido ao seu sabor distintivo, custo baixo e à atratividade proporcionada pela sua coloração, agregando valor estético ao alimento. Devido a essas características, o repolho roxo é amplamente consumido, principalmente em forma de saladas frescas. Outra vantagem é o tempo de vida útil do repolho roxo, o que permite seu armazenamento e disponibilidade durante todo o ano. Essa durabilidade contribui para torná-lo uma escolha prática e conveniente para o consumo regular (GHAREAGHAJLOU; HALLAJ-NEZHADI; GHASEMPOUR, 2021).

O fato das antocianinas exibirem diversos benefícios à saúde e propriedades colorimétricas características faz com que a extração desse composto seja de grande relevância para aplicação em produtos de diversas categorias, incluindo alimentos, cosméticos, fármacos e embalagens. O

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

procedimento de extração desempenha um papel crucial na obtenção de um extrato enriquecido em antocianinas (BELWAL *et al.*, 2020).

Este processo está associado a diferentes variáveis, incluindo a natureza da cor, fonte do material, tipo de solvente de extração, tempo e temperatura. Um procedimento de extração eficiente deve maximizar a recuperação de antocianina, sem degradá-la (PATIL *et al.*, 2009). Diante da busca de um melhor rendimento de extração, a adoção de planejamento experimental é uma ferramenta útil para a análise das condições do processo. Portanto, o presente estudo teve como objetivo o efeito do tempo de extração (30, 60 e 180 min sem banho ultrassônico e 30 minutos com banho ultrassônico) a fim de investigar a influência deste no rendimento da extração de antocianinas do repolho roxo.

Metodologia

Materiais

O repolho roxo (*in natura*) foi adquirido em um centro de distribuição de alimentos localizado em Cachoeiro de Itapemirim, Espírito Santo. O solvente empregado foi o álcool etílico P.A. (Química Moderna) e ácido clorídrico (Alphatec).

Extração de antocianinas do repolho roxo

O repolho roxo foi desfolhado e cortado em pedaços (área média de 1 cm²), desprezando-se a nervura central. Em seguida, a extração do conteúdo antociânico foi realizada pelo método descrito por Francis (1982), com modificação. Para a extração, aproximadamente 10 g de repolho roxo (*in natura*) foram adicionados 100 mL de etanol 85% e acidificados a pH 2 com HCl, cuja concentração foi selecionada com base em estudos anteriores realizados em nosso grupo para estabelecer as condições ideais de extração. Além disso, diferentes tempos de extração (com ou sem sem banho ultrassônico) foram utilizados a 27 ± 3 °C (Tabela 1). Em seguida, o extrato foi filtrado em papel Whatman 1 utilizando um funil de Buchner acoplado a uma bomba de vácuo. O extrato bruto (filtrado) foi armazenado em freezer (- 18 ± 2 °C) ao abrigo da luz, utilizando frascos âmbar para uso posterior.

Tabela 1 - Planejamento experimental utilizando diferentes condições de extração para obtenção do conteúdo antociânicos a partir do repolho roxo (*in natura*).

Tratamentos	Sem banho ultrassônico (minutos)	Com banho ultrassônico (minutos)
1	30	0
2	60	0
3	180	0
4	0	30

Fonte: O autor.

Caracterização das antocianinas

Os teores totais de antocianinas foram calculados de acordo com Lees e Francis (1972), com modificações. Foram realizados pré-testes para definição das alíquotas do extrato utilizadas na diluição. Para a quantificação, uma alíquota de 0,5 mL do extrato concentrado foi diluída em soluções tampões de KCl (pH = 1) e Na₂CO₃ (pH = 4,5). Em seguida, as soluções em cada tampão foram escaneadas nos comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm, respectivamente, em espectrofotômetro UV-visível (UV/VIS 300, Insmark Instrument, Shanghai, China). O teor total de antocianinas foi calculado de acordo com as equações descritas abaixo e o resultado expresso em equivalente da antocianina principal, no caso, cianidina-3-glucosídeo, principal antocianina presente no repolho roxo.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

$$A = ((A520 - A700) pH1,0 - (A520 - A700) pH4,5)$$

$$AT \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{A * MM * FD * 10^3}{\epsilon * 1}$$

Onde: A: Diferença de absorvâncias (500 e 700 nm); AT: Antocianinas; MM: Massa molecular (449,2 g/mol) para a cianidina-3-glucosídeo; FD: Fator de diluição estabelecido; ϵ : Absortividade molar de 26,900 L.mol⁻¹.cm⁻¹ da cianidina-3-glucosídeo.

Resultados

O indicativo da extração de antocianinas de repolho roxo se deu com base nos valores de absorbância na faixa de 535 nm, correspondente a cianidina-3-glucosídeo. A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos através do planejamento experimental em diferentes tempos de extração (com e sem banho ultrassônico) de antocianinas do repolho roxo.

Tabela 2 - Concentração de antocianinas obtidas através do planejamento experimental para as extrações de extrato do repolho roxo (*in natura*).

Tratamentos	Sem banho ultrassônico (minutos)	Com banho ultrassônico (minutos)	Quantidade de antocianinas (mg/100 g)
1	30	0	66,9
2	60	0	67,2
3	180	0	101,2
4	0	30	160,3

Fonte: O autor.

Diferentes concentrações de antocianinas foram encontrados no extrato. O tratamento 1 (*In natura*; 30 min; 27 ± 3 °C) apresentou menor concentração de antocianinas (66,9 mg/100 g), valor próximo do encontrado no tratamento 2 (*In natura*; 60 min; 27 ± 3 °C) com 67,2 mg/100 g. Já o tratamento 3 (*In natura*; 180 min; 27 ± 3 °C) apresentou a maior concentração dentre os tratamentos sem a utilização do banho ultrassônico com concentrações de antocianinas de 101,2 mg/100 g. O tratamento que apresentou a maior concentração de antocianinas/100 g de amostra foi o tratamento 4 (*In natura*; 30 min com banho ultrassônico).

Discussão

A escolha do solvente extrator deve ser feita de forma a maximizar a extração de pigmentos com o mínimo de substâncias indesejáveis e sem causar degradação ou alteração significativa no produto alvo. Comparando os principais solventes utilizados em métodos de extração (metanol, acetona e etanol) observa-se que o etanol é o mais adequado para aplicações industriais, apresentando baixa toxicidade além de menores concentrações de substâncias indesejáveis ao extrato final (LI; SMITH; HOSSAIN, 2006).

Outro fator importante para a estabilidade do extrato antociânico de repolho roxo é o pH. A acidificação suave do meio extrator é empregada para facilitar a liberação e a solubilidade das antocianinas presentes no tecido vegetal, bem como para a sua estabilização (DAI *et al.*, 2009). Em suas pesquisas Walkowiak-Tomczak e Czapski (2007) descobriram que as antocianinas do repolho roxo demonstraram a maior estabilidade em pH 3,0 ou inferior e valores de pH acima desse valor resultaram em maior degradação das antocianinas. Além disso, no caso das antocianinas outros fatores devem ser levados em consideração para possível utilização na indústria.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

A temperatura e o tempo de extração também são fatores críticos na degradação das antocianinas. Estudos indicam que o aquecimento a altas temperaturas por longos períodos de tempo pode causar alteração na cor, na capacidade antioxidante e na quantidade de antocianinas (APRODU *et al.*, 2020). Devido ao processamento térmico, as antocianinas podem sofrer uma infinidade de mecanismos de reações, como glicosilação, ataque nucleofílico da água, clivagem e polimerização, que resultam em perda e degradação desse pigmento (RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2019). Recomenda-se assim que a extração ocorra entre 25 a 50 °C (SAMPAIO *et al.*, 2008).

West e Mauer (2013) relatam que o tratamento térmico a 35 °C reduziu pela metade o teor total de antocianina em comparação com o extrato de uva obtido a 25 °C. Além disso, a cor das antocianinas mudou de vermelho para laranja em temperaturas de até 40 °C, indicando possíveis mecanismos de degradação que podem estar associados à abertura do anel central, seguida pela hidrólise da molécula. Os autores relatam que a degradação do extrato foi observada mesmo em condições de pH ácido. Segundo Sadilova; Stintzing e Carle (2006) os autores demonstraram que antocianinas extraídas de Sabugueiro (*Sambucus nigra* L.) mostraram-se sensíveis ao tratamento térmico a 95 °C e, após 3 h de aquecimento, apresentando apenas 50% dos pigmentos retidos.

O uso do banho ultrassônico se mostra uma alternativa sustentável para o processo extrativo, uma vez que a formação de cavitações durante o processo permite a extração em temperatura ambiente, com tempo reduzido e emprego de menor quantidade de solvente (MATOS *et al.*, 2010). Na literatura são relatadas inúmeras vantagens em relação à extração assistida por ultrassom. Além de maior recuperação de conteúdo antocianínico em menor intervalo de tempo, tem-se a menor utilização de solvente e a degradação mínima de antocianinas. Visto isso, atualmente a técnica vem sendo usada como alternativa ao método convencional de extração por solvente para a extração de antocianinas de tecidos vegetais com mais eficiência (FAROOQ *et al.*, 2020). Pesquisas encontradas na literatura indicam que as variações encontradas na concentração de antocianinas podem ser elucidadas por meio das diferentes metodologias de extração. Além disso, variações nas concentrações de antocianinas se devem também a instabilidade frente a fatores que podem ocorrer durante o processo de armazenamento tais como incorporação de oxigênio, temperatura e luz (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Conclusão

A adoção de novas tecnologias de extração, como o ultrassom, evidencia um potencial notável e uma seletividade promissora para aprimorar os processos de extração. Os resultados obtidos, particularmente no tratamento 4 (*In natura*; 30 min com banho ultrassônico), revelaram concentrações substancialmente maiores de antocianinas no repolho roxo. Essa abordagem ressalta a importância de otimizar a interação entre solventes, tempo e temperatura durante a aplicação do ultrassom, destacando sua eficácia na extração do conteúdo antocianínico. No entanto, é fundamental considerar também a estabilidade das antocianinas frente às variáveis envolvidas no processo de extração. Compreender como diferentes condições podem afetar a estabilidade desses compostos é vital para maximizar sua preservação e potencial benefício.

A combinação de tecnologias de extração eficientes, como o ultrassom, e o foco em reduzir custos oferece uma alternativa ambientalmente sustentável e economicamente viável em comparação aos métodos tradicionais. A diminuição do uso de solventes orgânicos em larga escala, assim como a redução dos tempos de extração prolongados, ressoa com as crescentes preocupações ambientais e a busca por práticas na indústria. Em última análise, a aplicação dessas novas tecnologias de extração não apenas potencializa a obtenção de compostos desejados, mas também reflete a constante evolução da pesquisa e da prática, impulsionando o campo da extração a se adaptar e abraçar abordagens mais eficazes e sustentáveis.

Referências

ALVAREZ-SUAREZ, J. M. *et al.* Novel approaches in anthocyanin research-Plant fortification and bioavailability issues. **Trends in Food Sci. & Technol.**, v. 117, n. 1, p. 92-105, 2021.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

APRODU, I *et al.* Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from purple maize flour extract and the effect of heating on selected biological functionality. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1593, 2020.

BELWAL, T. *et al.* Optimization of extraction methodologies and purification technologies to recover phytonutrients from food. In: **Phytonutrients in Food**. Woodhead Publishing, 2020. p. 217-235.

DAI, J. *et al.* A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. **Food Chem. Toxicol.**, v. 47, n. 4, p. 837-847, 2009.

FAROOQ, S. *et al.* Recent trends in extraction techniques of anthocyanins from plant materials. **J. Food Meas. Charact.**, v. 14, p. 3508-3519, 2020.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins in foods. Anthocyanins as Food Colors, [P Markakis, editor]. **Academic Press**, p. 181-207, 1982.

GARG, M. *et al.* Rising demand for healthy foods-anthocyanin biofortified colored wheat is a new research trend. **FRONT NUTR**, v. 9, n. 1, p. 878221, 2022.

GHAREAGHAJLOU, N.; HALLAJ-NEZHADI, S.; GHASEMPOUR, Z. Red cabbage anthocyanins: Stability, extraction, biological activities and applications in food systems. **Food Chem.**, v. 365, p. 130482, 2021.

HOSSEINI, S. *et al.* Evaluation the organic acids ability for extraction of anthocyanins and phenolic compounds from different sources and their degradation kinetics during cold storage. **Polish J. Food Nutr. Sci.**, v. 66, n. 4, 2016.

JIAO, X. *et al.* Effect of in vitro-simulated gastrointestinal digestion on the stability and antioxidant activity of blueberry polyphenols and their cellular antioxidant activity towards HepG2 cells. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 53, n. 1, p. 61-71, 2018.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. **HortScience**, v. 7, p. 83-84, 1972.

LI, B. B.; SMITH, B.; HOSSAIN, M. D. M. Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method. **Sepp. Purif. Technol.**, v. 48, n. 2, p. 182-188, 2006.

MATOS, L. J. B. L. *et al.* Estudo comparativo da extração do óleo da borra de café. **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 2010.

PATIL, G. *et al.* Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish. **Chem Eng Process: Process Intensification**, v. 48, n. 1, p. 364-369, 2009.

PERTUZATTI, P. B. *et al.* Antimicrobial activity and differentiation of anthocyanin profiles of rabbiteye and highbush blueberries using HPLC-DAD-ESI-MSn and multivariate analysis. **J. Funct. Foods**, v. 26, p. 506-516, 2016.

PODSEDEK, A.; MAJEWSKA, I.; KUCHARSKA, A. Z. Inhibitory potential of red cabbage against digestive enzymes linked to obesity and type 2 diabetes. **J. Agric. Food Chem.**, v. 65, n. 33, p. 7192-7199, 2017.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. Editora Blucher, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Update on natural food pigments-A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. **Food Res. Int.**, v. 124, p. 200-205, 2019.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

SADILOVA, E.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. **J. Food Sci.**, v. 71, n. 8, p. C504-C512, 2006.

SAMPAIO, P. G. **Otimização da extração, esterilização e identificação de antocianinas obtidas a partir de frutas**. 2008. 164 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP.

WEST, M. E.; MAUER, L. J. Color and chemical stability of a variety of anthocyanins and ascorbic acid in solution and powder forms. **J. Agric. Food Chem.**, v. 61, n. 17, p. 4169-4179, 2013.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES; TO: 476/2021; SIAFEM: 2021-QH8HV) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financiador 001. Os autores agradecem aos pesquisadores do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica (PPGAQ), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e do Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS-CNPq) pelo apoio em estrutura e aprendizagem.