UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
CHRISTHIAN ALAN GRANDO

DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINA DO BAGAÇO DA UVA

Tubarão
2020

CHRISTHIAN ALAN GRANDO

DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINA DO BAGAÇO DA UVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Química bacharelado da Universidade do Sul de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Graduado.

Orientador: Prof. Ms Alessandro de oliveira lima

Tubarão

2020

CHRISTHIAN ALAN GRANDO

DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINA DO BAGAÇO DA UVA

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado à obtenção do título de Gruaduado e aprovado em sua forma final pelo Curso de Química bacharelado da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, 27 de julho de 2020.

_____

Professor e orientador Ms. Alessandro de oliveira lima.

Universidade do Sul de Santa Catarina

_____

Prof. Ms.Cesar Renato Alves da Rosa
Universidade...

_____

Prof. Dr. Jair Juarez João
Universidade do Sul de Santa Catarina

_____

Prof. Ms. Wilson Alano
Universidade do Sul de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

A Deus agradeço pela saúde e forças para chegar à conclusão deste curso.

Aos meus professores que me orientaram e guiaram neste caminho de formação profissional.

Agradeço também aos meus pais pela dedicação, amor e cuidado comigo todos estes anos.

À minha namorada que esteve presente na realização deste trabalho, me ouvindo e me dando suporte, obrigado.

Aos meus amigos agradeço pela compreensão das horas de ausência.

“Omundonãosedivideempessoasboasemás.TodosnóstemosLuze Trevas dentro de nós. O que importa é o lado que escolhemos para agir. Isso é o que realmentesomos.”(SiriusBlack)

“Sãoasnossasescolhasquerevelamoque realmente somos. Muito mais doqueasnossasqualidades.”(AlvoDumbleodore)

RESUMO

Os corantes é qualquer substância ou mistura que intensifica sabor, ou a coloração de um alimento (ANVISA. CNNPA Nº 44, DE 1977). Estes são empregados na indústria alimentícia para corrigir a aparência visual de produtos em que são alterados durante o processamento dos alimentos. Devido ao apelo por ingredientes naturais e funcionais, as indústrias estão buscando atender este mercado consumidor que está mais exigente. Em paralelo, as antocianinas são pigmentos naturais presentes em muitos tipos de frutas, como a uva, jabuticaba, morango e outros. Todos os anos, as indústrias fabricantes de suco de uva e vinhos descartam uma grande quantidade de resíduos sólidos derivado de sua produção, sendo esta constituída em grande parte pelo bagaço da fruta. O mesmo apresenta boas quantidades de antocianina que é um antioxidante natural. O objetivo do presente trabalho foi determinar o rendimento de antocianina da casca das uvas a partir da extração de solvente, orientado a produção de corante orgânico. Para isso, procurou-se identificar o melhor método de extração deste pigmento, pois, atualmente, dificilmente encontra-se um método padrão para a extração. Foram utilizados três métodos usuais: extração por Soxhlet com um solvente orgânico, extração por contato direto, deixando o bagaço em contato com o solvente orgânico por uma semana, e, por fim, em contato direto com solvente orgânico com 1% de HCL concentrado. Foram determinados os rendimentos de cada um dos três métodos utilizados. Com os resultados, observou-se que, o método mais eficiente foi o bagaço em contato direto com etanol com 1% de HCl. Em relação ao ºBrix não houve uma grande variação, entretanto, a acidez houve uma significativa diferença onde com ácido, teve um valor muito mais ácido que apenas com etanol ou Soxhlet. Com esses resultados, possibilitou a aplicação do processo de extração a nível industrial. Há a necessidade de se estudar mais afundo novos métodos de extração e aplicação, visando na produção de produtos que tragam maior qualidade de vida.

Palavras-chave: Antocianina. Extração por solvente. Bagaço de uva.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 – Estrutura genérica dos flavonoides. 17
Figura 2.2- Estrutura química das antocianinas.....18
Figura 2.10- Uso de corantes alimentícios. 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ciclos e hora de cada ciclo. 20
Tabela 2- resultados da extração pelo método de Soxhlet. 23
Tabela 3 – Resultados da extração por contato direto com etanol. ….....23
Tabela 4 – Resultado da extração por contato direto com etanol com 1% de HCl. 24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **9**
1.1 JUSTIFICATIVA 10
1.2 OBJETIVOS 11
1.2.1 Objetivo geral **11**
1.2.1.1 Objetivos específicos 11
1.3 RESÍDUOS DA INDÚSTRIA VITIVINÍCOLA 11
1.4 INDÚSTRIA DO SUCO DE UVA NATURAL 12
1.5 FLAVONOIDES 12
1.6 ANTOCIANINAS 13
1.7 PROCESSO DE EXTRAÇÃO 15
1.8 INFLUÊNCIA DO SOLVENTE 15
1.9 INFLUÊNCIA DO PH 16
1.10 INFLUÊNCIA DO CLIMA 16
1.11 ETANOL COMO SOLVENTE 17
1.12 CORANTES 17
1.13 UMA ALTERNATIVA DOS CORANTES 18
2 MÉTODOS **19**
2.1 A PESQUISA REALIZADA 19
2.1 EXTRAÇÃO DO PIGMENTO 20
2.2 ENSAIOS 21
2.3 ANÁLISE DOS DADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 22
2.4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO POR EXTRAÇÃO DE SOXHLET **23**
2.4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO POR CONTATO DIRETO COM ETANOL **23**
2.4.3 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO POR CONTATO DIRETO COM ETANOL MAIS 1% DE HCL P.A **23**
3 CONCLUSÃO **25**
REFERÊNCIAS **26**

1 INTRODUÇÃO

Vivemos em uma era onde as cores caminham junto com a aceitação de um produto. Com tantas opções disponíveis no mercado (alimentício ou não) a cor é a primeira percepção que um consumidor tem ao escolher um determinado item.

> Os órgãos dos sentidos humanos captam cerca de 87% de suas percepções pela visão, 9% pela audição e os 4% restantes por meio do olfato, do paladar e do tato. A percepção da cor não se refere apenas à habilidade do homem em distinguir a luz de diferentes comprimentos de onda. A cor é o resultado produzido no cérebro pelo estimulo recebido quando a energia radiante penetra nos olhos, permitindo a distinção do verde, do azul, do vermelho e de outras cores (ANGELUCCI, 1988).

A partir disso, os corantes estão introduzidos nos alimentos "in natura" ou industrializados para restituir a aparência original afetada durante processos de armazenagem, embalagens e outros, tornando o alimento visualmente mais atraente.

> Além de necessária para sobrevivência, a alimentação também é fonte de prazer e satisfação. Por essa razão, o setor alimentício preocupa-se tanto com a aplicação de cores e obtenção de alimentos que agradem aos olhos do consumidor (COLLINS e PLUMBLY, 1995; FREUND *et al*., 1988).

Na atualidade observa-se grandes discussões entre consumidores, órgãos governamentais e pesquisadores sobre o uso desses aditivos e isso impacta diretamente na comercialização dos corantes em países como Suíça, França e Noruega.

O Brasil segue a mesma corrente de ideias sobre o uso destes aditivos, cabem aos pesquisadores coletar informações a respeito do seu uso, para esclarecer a real situação de modo a propor novos métodos de pigmentação com respeito aos aspectos de saúde e qualidade de vida.

As antocianinas (das palavras gregas *Anthos,* flor e *Kianos,* azul), são pigmentos vegetais responsáveis pela maioria das cores azul, roxa, e todas as tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas.

Para extrações de sólidos-líquidos que utilizam solventes orgânicos, têm-se usado principalmente em escalas indústrias. Na extração de compostos bioativos em casca de uva, os mais utilizados são acetona ou etanol. Estes permitem que os componentes que são solúveis, sejam removidos de forma individual ou misturados.

A produção de pigmentos naturais a partir de resíduos de frutas tornou-se uma tendência, devido a redução significativa da disposição destes resíduos no meio ambiente e a

necessidade de tratamento como a compostagem, requerendo um controle biológico de certa complexidade.

1.1 JUSTIFICATIVA

O uso de aditivos artificiais vem sendo cada vez mais restrito em vários países ao redor do mundo devido a complicações que podem acarretar a saúde.

Tendo em vista a atual preocupação com os produtos que podem ou não fazer mal, agravar ou até mesmo desenvolver uma doença em um ser humano, aumenta muito as pesquisas para desenvolver meios saudáveis para nossos alimentos. Uma maneira é optar por produtos naturais, e um deles é o corante natural, que pode ser utilizado para a indústria alimentícia, pois vimos ser uma maneira mais saudável, sendo assim a pesquisa para acrescentar o corante natural, não só é beneficial à saúde, como também pode dar um devido fim ao bagaço da uva.

O suco de uva é resultado do processamento da fruta, através de um processo não fermentado, não alcoólico, de cor, aroma e sabor característico. Com os avanços da tecnologia, está havendo uma crescente mudança no mercado de produtos naturais, justamente pelo aumento da restrição devido aos possíveis efeitos tóxicos quais os efeitos podem ser: Predisposição a alguns tipos de câncer, bronquites, asma, rinite, dor de cabeça, diarreias, entre outros problemas que podem ser prejudiciais à saúde.

Devido à alta demanda no mercado, abre-se espaço para empresas que atuam no ramo de produtos orgânicos. Considerando-se que na região não há uma empresa especializada na produção de suco de uva natural, foi observado um possível sucesso nas vendas e, por isso, projeta-se a implantação de uma empresa no município de Braço do Norte, visando produzir um suco natural, para assegurar fornecimento para a demanda existente, indicando alternativa de reutilização do resíduo de casca da fruta. Com isso, busca-se agregar valor, transformando o resíduo em produto com um valor de mercado representativo.

As antocianinas (das palavras gregas *Anthos,* flor e *Kianos,* azul), são pigmentos vegetais responsáveis pela maioria das cores azul, roxa, e todas as tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (MARKAKIS, 1982). São compostos solúveis em água e altamente instáveis em temperaturas elevadas (SHAHIDI e

NACZK, 1995). E seus benefícios são: anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, controle de peso, prevenção de doenças cardiovasculares e de diabetes.

Pergunta-se então: É possível determinar o rendimento da extração de pigmento de antocianina de cascas de uvas para a produção de corante orgânico? Em investigação realizada no ano de 2020 na cidade de Tubarão/SC.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Determinar o rendimento de antocianina da casca das uvas a partir da extração de solvente, orientado a produção de corante orgânico.

1.2.1.1 Objetivos específicos

a) Extrair antocianina do bagaço da uva.

b) Analisar as propriedades físico-químicas do extrato.

c) Quantificar o teor de antocianina.

1.3 RESÍDUOS DA INDÚSTRIA VITIVINÍCOLA

A produção de vinhos e sucos de uva implica na geração de altas quantidades de resíduos, sendo o bagaço um dos principais. O mesmo é constituído por engaço, cascas e sementes, e geralmente é usado como fertilizante e rações animais. Porém tem se observado que o bagaço apresenta um alto teor de compostos fenólicos, que acaba inibindo a germinação das sementes e reduz a capacidade de digerir dos animais ruminantes.

Contudo esses compostos bioativos que estão no bagaço, que acabam dificultando a digestibilidade dos ruminantes e a germinação, apresentam pontos muito positivos para os seres humanos, tais como: atividade antioxidante, antiviral, antimicrobiana e anti-inflamatória. (MONTIBELLER, MARIA JARA, EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA EM CASCAS

DE UVA: PROCESSO SUSTENTÁVEL PARA OBTENÇÃO DE CORANTE ANTOCIÂNICO).

1.4 INDÚSTRIA DO SUCO DE UVA NATURAL

O começo das primeiras videiras que foram cultivadas no Brasil é de origem europeia, e vieram com a chegada dos portugueses em (1532). No começo do século XIX, os imigrantes italianos introduziram uma uva de variedade americana.

Transformando-se na base para o desenvolvimento da vitivinicultura comercial nos estados do Rio Grande de Sul e São Paulo a “Isabel” na rápida substituição dos vinhedos de variedades europeias.

No início do século XX a variedade “Isabel” foi substituída pela “Niágara Branca” e “Seibel II” na viticultura paulista. No mesmo período, houve incentivos governamentais, assim intensificando a plantação de castas viníferas no Rio Grande do Sul. (BOTELHO; PIRES, 2009).

1.5 FLAVONOIDES

Os flavonoides são constituídos pelo maior grupo de compostos fenólicos de plantas, na qual são responsáveis pela coloração dos frutos e das flores. São compostas por 15 átomos de carbono, com um baixo peso molecular. A figura 2.1 apresenta sua estrutura genérica. Que são dois anéis aromáticos, A e B, que estão ligados por uma ponte de 3 carbonos condensados por um oxigênio, na forma de anel heterocíclico. As variações que ocorrem no anel C resultam na maioria das subclasses dos flavonoides (FRANCIS, 1989; BALASUNDRAM, SUNDRAM E SAMMAN, 2006; MALACRIDA E MOTTA, 2006).

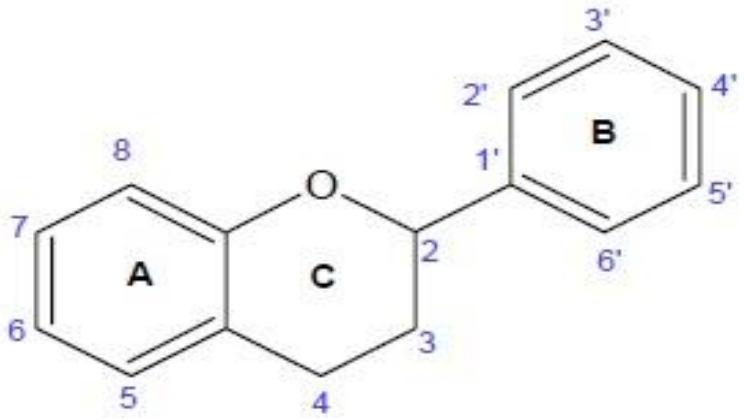


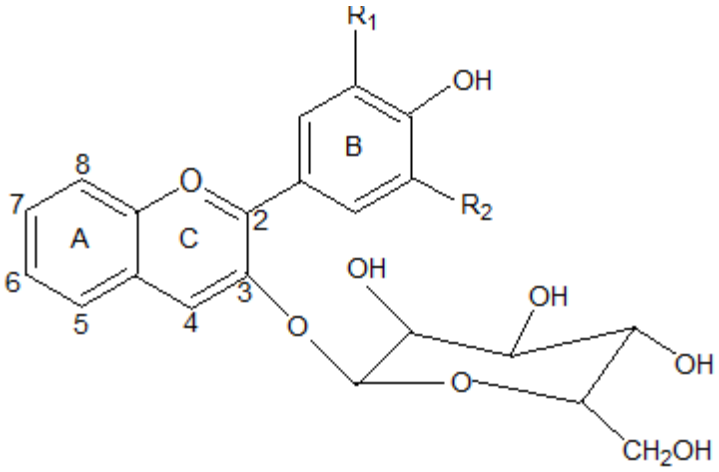
Figura 2.1 – Estrutura genérica dos flavonoides. Fonte: Malarida e Motta 2006.

O número da posição dos grupos de hidrogênio e suas conjugações, e dos grupamentos, hidroxi, metoxi, glicosídico e a presença de elétrons dos anéis benzênicos que vão definir seu potencial antioxidante. Nas posições 3,4 e 5 do anel B com presença de hidroxila, é responsável por aumentar a atividade antioxidante, entretanto, dependendo da subclasse do flavonoide o efeito pode ser contrário (FRANCIS, 2000; BALASUNDRAM, SUNDRAM E SAMMAN, 2006).

1.6 ANTOCIANINAS

O interesse pelo desenvolvimento de corantes de fontes naturais tem aumentado devido à exigência do consumidor quanto à qualidade dos alimentos, tal como as ações legislativas para a redução do uso de corantes que são sintetizados quimicamente em alimentos, e devido ao benefício que estes corantes naturais podem fazer (SAONA-RODRIGUEZ, GIUSTI e WROLSTAD, 1998).

As antocianinas são substâncias fenólicas, polihidroxi derivadas do cátion *Flavilium,* glicosídeos de antocianinas (FIGUEIREDO, 1996), da família dos flavonoides, é constituído por um grupo de pigmentos solúveis em água, e altamente instáveis em temperaturas elevadas, que são de maioria das cores laranja, vermelha e azul de flores, vegetais e frutas, podendo ter sua cor alterada pela mudança de pH (BROUILLARD, 1983).



Aglicona (Estrutura do anel B)		Substituição glicosídica (substituição nas posições 3 e 5)	Acilação (esterificação das hidroxilas do açúcar)
R1 = R2 = H	Pelargonidina	D-glicose	Ácidos cinâmicos
R1 = OH, R2 = H	Cianidina	D-galactose	p-cumárico
R1 = R2 = OH	Delfinidina	D-xilose	Ferúlico
R1 = OCH3, R2 = H	Peonidina	L-ramnose	Caféico
R1 = OCH3, R2 = OH	Petunidina	L-arabinose	
R1 = R2 = OCH3	Malvidina	Rutinose	Ácidos alifáticos
		Soforose	Acético
		Sambubiose	Malônico
		Gentiobiose	Succunico

Figura 2.2- Estrutura química das antocianinas. Fonte: Malacrida e Motta (2006).

A antocianina sendo constituída por um grupo de açucares, uma aglicona (antocianidina), e frequentemente um grupo de ácidos orgânicos. Das 22 agliconas conhecidas, onde 18 ocorrem de forma natural, apenas seis são importantes em alimentos (malvidina, delfinidina, cianidina, pelargonidina, peonidina e petunidina) (FRANCIS, 2000). Podendo apresentar uma alternativa muito atrativa para o suprimento da cor vermelha (SARNI-MANCHADO, 1996).

Estes corantes que são atóxicos podem ser usados para adição em produtos cárneos, lácteos e em cereais, entre outros (GARCÍA-LOMILLO; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2017). Além dos usos para a área de pigmentação derivada do bagaço da uva, vários estudos têm mostrado que as antocianinas possuem muitas propriedades benéficas para a saúde humana, tais como anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, controle de peso, prevenção de doenças cardiovasculares e de diabetes, o que incentiva seus estudos para a produção alimentícia (KONCZAK; ZHANG, 2004; MARKAKIS, 2012).

1.7 PROCESSO DE EXTRAÇÃO

Para extrações de sólidos-líquidos que utilizam solventes orgânicos, têm-se usado principalmente em escalas indústrias o uso do método de Soxhlet, este método é considerado muito convencional para avaliar o desempenho de outros métodos. (BARBA, 2016; WANG; WELLER, 2006).

A fim de eliminar ou minimizar interferências da matriz, deve-se ter muito cuidado com a escolha dos solventes. Essas técnicas são muito difundidas atualmente, utilizando diferentes compostos orgânicos. Na extração de compostos bioativos em casca de uva, os mais utilizados são acetona ou etanol. Estes permitem que os componentes que são solúveis, sejam removidos de forma individual ou misturados (BARBA, 2016; LUTHRIA, 2008; PROESTOS; KOMAITIS, 2008).

1.8 INFLUÊNCIA DO SOLVENTE

Não existem sistemas de extrações com solventes que sejam satisfatórios para o isolamento de todos ou de alguma classe específica de antioxidantes naturais, devido a vários fatores, a natureza química desses compostos nos alimentos, variam do simples ao altamente polarizado, há uma imensa variedade de compostos bioativos nos vegetais e frutas (como ácidos fenólicos, antocianinas e taninos, entre outros) e diferentes quantidades presentes neles também. Além da possibilidade de interação de compostos antioxidantes com proteínas, carboidratos entre outros componentes presentes nos alimentos. Alguns desses complexos são altamente insolúveis em água. Contudo, os extratos sempre contêm uma mistura de substâncias fenólicas de diversas classes que acabam sendo solubilizadas no solvente do sistema desejado. Alguns estágios adicionais podem ser necessários para purificar o isolado e remover substâncias fenólicas e não fenólicas indesejadas (SHAIDI E NACZK, 1995).

1.9 INFLUÊNCIA DO PH

As antocianinas podem apresentar diferentes estruturas em função da sua acides ou alcalinidade, por isso o pH é o fator que mais influência na coloração das mesmas, pois elas podem apresentar diversas formas estruturais. Outros fatores também podem influenciar a coloração, dentre eles a temperatura e possíveis ligações com outras substâncias químicas (LEE, 2005; ANDERSEN; JORDHEIM, 2006).

1.10 INFLUÊNCIA DO CLIMA

Na atividade vitivinícola pode sofrer muita influência climática, devido ao aumento de temperatura do ar, alterações nas distribuições e frequências de chuvas. Há um aumento na temperatura média e também um aumento na ocorrência de chuvas na região sul do brasil, segundo apontam alguns modelos climáticos (MARENGO *et al*.,2009).

Na qualidade e produção da uva e na qualidade do vinho o clima possui forte impacto. Os extremos de temperatura do ar, tanto as máximas como as mínimas, afetam negativamente as produções agrícolas (STRECK *et al*., 2011).

O aumento da temperatura acarreta impactos no cultivo da uva e acaba causando modificações na área de produção, e nas variedades cultivadas. A redução de geadas e o aquecimento observado nos últimos 50 anos trouxeram grandes benefícios para o cultivo da uva. Esses benefícios podem ser mais bem observados em regiões de climas mais frios como a região sul, entretanto em regiões com climas mais quentes, houve a necessidade de investimentos na área de irrigação, aumentando assim os custos para a produção (JONES E GOODRICH (2008)).

1.11 ETANOL COMO SOLVENTE

O etanol é um solvente orgânico, polar, de formula molecular C_2H_5OH, onde sua massa molar é de 46,07 $g.mol^{-1}$, e um ponto de ebulição relativamente baixo de 78,5 ºC, onde é um dos pontos que ajuda na hora da extração, por ter esse ponto de ebulição relativamente baixo. Como a água o etanol apresenta uma acidez e uma basicidade de caráter fracamente ácido e fracamente básico. O etanol sem dúvidas economicamente o mais importante dos álcoois alifáticos, e como solventes apenas perde para a água. O etanol ainda pode ser obtido de uma forma natural, no caso da cana de açúcar, e se dá pelo processo de fermentação da sacarose, e do amido (Revista Virtual de Química, vol 5, num 5).

1.12 CORANTES

Dos órgãos sensitivos a visão é responsável por captar 87% de suas percepções, seguido pela audição que é responsável por 9%, e os 4% restantes são captados pela audição, tato e paladar. A percepção de cor não se dá apenas a capacidade de distinguir a luz em diversos comprimentos de onda, mas sim pelo resultado produzido no cérebro decorrente do estimulo recebido quando a energia é penetrada nos olhos. Hoje a aceitação de um produto, se dá muito pela cor, pela aparência e pela estética que o mesmo terá, muitas vezes podendo agregar um valor maior a esse mesmo produto, simplesmente pelos itens descritos acima estarem em perfeita harmonia para o consumidor. A característica sensorial, é muito importante, pois agrega um estimulo, levando a uma indução global resultando de outras características como o aroma, sabor e textura, sendo assim o alimento pode exercer um efeito estimulante ou inibidor do apetito (CONSTANT, STRINGHETA, SANDI, 2002).

O valor nutricional, e sabor deveriam ser o ponto crucial para o consumo de um determinado alimento, porém principalmente a cor seguida pelo aroma e textura, são pontos que induzem o consumidor a consumir determinado alimento (BOBBIO,1995).

1.13 UMA ALTERNATIVA DOS CORANTES

Num passado não muito distante o uso de corantes artificiais, era a principal maneira de aplicar uma coloração em produtos industrializados. Nos últimos 15 anos, baseando-se em estudos de toxicidade, o uso de vários corantes acabou sendo proibido pela legislação de inúmeros países, observando assim uma nova tendência no consumo de corantes, que resultou em uma pequena mudança para a troca dos artificiais para os naturais. O uso exagerado de vários aditivos sintéticos tem aumentado muito as intoxicações por arsênio, chumbo e mercúrio, além do alto risco de câncer, os EUA , O FDA (*Food and Drug Administration*), esta permitindo o uso de apenas sete corantes artificiais nas indústrias alimentícias e de cosméticos, sendo que esse número já chegou a oitenta, então seguindo o raciocínio, muito se tem aceito as formas naturais de corantes, devido ao seu benefício à saúde, e trocando os sintéticos, que trazem malefícios (MORITZ, 2005; CUNHA, 2008).

2 MÉTODOS

2.1 A PESQUISA REALIZADA

Para responder à questão central da investigação (hipótese de trabalho) optou-se pelo método de abordagem quantitativa, com procedimento experimental e nível explicativo. A contribuição empírica para a sociedade e a ciência são explicitados.

> [...] dedicada a trabalhar a parte da realidade que se manifesta empiricamente e é, por isso, mais facilmente manejável. Em muitos lugares, aceita-se apenas esta como pesquisa, porque se confunde produção científica com experimentação. Chama-se empirismo o vício de reduzir a realidade toda à sua manifestação empírica ou à manifestação mensurável quantitativamente. (DEMO, 2012, p. 39-40).

Dessa forma, buscar-se-á mensurar a manifestação empírica do objeto de estudo para que sejam alcançados os objetivos propostos a partir de rigoroso planejamento. É um tipo de estudo que oferece ao pesquisador controle absoluto e adequando da situação. Nestes casos, há um afastamento proposital do objeto pesquisado para que, além de não sofrer interferência externa, apresentar resultados fidedignos e confiáveis.

O nível, explicativo, corresponde à necessidade da proposta investigativa pois, além das hipóteses secundárias, tratará da determinação e manipulação de variáveis. Kerlinger (2003, p. 127), nos diz que “a força básica da pesquisa experimental está no controle relativamente alto da situação experimental e consequentemente das possíveis variáveis independentes. Isto significa que as relações podem ser estudadas isoladas da cacofonia do mundo exterior; as relações “puras” podem ser estudadas”

Assim, o estudo realizado caracterizou-se por manipular diretamente as variáveis determinadas previamente para a pesquisa. Os testes realizados em laboratório permitiram a determinação da adequação de produtos, especificamente a extração de antocianinas das cascas das uvas, para a produção de corante orgânico, procurando oferecer ao mercado um produto com preço competitivo.

2.1 EXTRAÇÃO DO PIGMENTO

Foi iniciado o processo montando o extrator Soxhlet, e pesado 40 Gr de cascas, onde foi colocado em um papel filtro e introduzido no extrator, foi adicionado também 170 mL de etanol absoluto e posto numa manta aquecedora, deixando atingir a temperatura de 78 ºC.

O procedimento começou às 19h52min, foi observado que os ciclos de passagem do solvente, eram de exatamente 10 minutos, onde foram realizados sete ciclos.

Ciclos	Hora
Primeiro ciclo	20h07min
Segundo ciclo	20h17min
Terceiro ciclo	20h27min
Quarto ciclo	20h37min
Quinto ciclo	20h47min
Sexto ciclo	20h57min
Sétimo ciclo	21h07min

Tabela 1 - Ciclos e hora de cada ciclo

Outra observação foi que a partir do sexto ciclo, não valeria mais a pena continuar com a extração, pois o solvente em contato com o bagaço já estava com uma coloração muito clara. Após o processo de extração, foi deixado em repouso para a solução esfriar, e foi destilado, destilando apenas 140 ml dos 170 ml iniciais, para não correr o risco de carbonizar nosso analíto, subseqüente a destilação, foi separado um frasco de coloração marrom, para o armazenamento do mesmo, onde foi envolto com papel alumínio e guardado na geladeira, para começar as análises da antocianina.

No mesmo dia foram feitos outros dois métodos de extração, que é a extração por contato direto do solvente orgânico com o analíto, e outro foi à extração por contato direto do solvente orgânico com 1% de HCL concentrado. Foram pegos dois béqueres e posto o etanol em contato com o bagaço, e o outro foi posto o etanol com HCl em contato com o bagaço, e deixado duas semanas em repouso, a fim de ver um método eficiente, e com um alto rendimento.

2.2 ENSAIOS

2.2.1 Determinação de °Brix

Os materiais utilizados foram um refratômetro (medidor de °Brix) e um béquer, aplicar a amostra no prisma do refratômetro, e deixar um tempo para a temperatura da amostra entrar em equilíbrio com a do equipamento, fazer a leitura no medidor Brix, que fornece a quantidade dos açucares contidos no analito em %g /100g.

.

2.2.2 pH: mede a concentração de íons H^+ no caso sua acidez

Os materiais utilizados foram um béquer e uma fita de pH, colocar uma quantidade de amostra suficiente para que consiga cobrir a fita de pH, fazer a leitura com base na cor e verificar na caixa.

2.2.3 Acidez

Os materiais utilizados foi uma bureta, fita de pH, pipeta 10 ml, pipetar 10 ml de amostra num béquer, adicionar 30ml de água destilada, e titular com solução NaOH 0,1N até pH 8,3. O resultado aplicar na fórmula: acidez= ml de NaOH x 0,075., sendo o valor %g/100g de ácido titulável.

2.2.4 Determinação da cor

Foi utilizado um espectrofotômetro, solução de ácido cítrico e solução de fosfato dissódico para ajuste do pH da solução tampão feita, ligar o espectrofotômetro 15 minutos antes para que se estabilize, ajustar a solução tampão Mac Ilavaines até o pH 3,2 (se o pH estiver menor que 3,2 ajustar com solução de fosfato dissódico, se estiver maior que 3,2 ajustar com solução de ácido cítrico). Pesar 5ml de amostra num balão de 100ml. E completar com a solução Mac Ilavaines. Colocar na cubeta a solução e calibrar o espectrofotômetro com água destilada. Fazer a leitura do aparelho nas seguintes faixas: 430nm e 520nm. O resultado será expresso na seguinte formula:

$$relação\ da\ cor = \frac{leitura\ na\ faixa\ de\ 520nm}{leitura\ na\ faixa\ de\ 430nm}$$

2.2.5 Teor de antocianina

A antocianina e expressa em teor de antocianina totais (AT) e foi utilizado o método proposto por FLEKI E FRANCIS (1968).

Realizou-se a determinação do teor de antocianinas total da amostra de bagaço, obteve-se o valor de antocianinas totais através da seguinte equação:

$$AT\ \left(\frac{mg}{100g}\right) = \frac{abs\ \lambda\ max\ x\ Fd\ x\ V}{E^{1\%}1cm\ x\ m}\ \text{x}\ 100$$

Abs λ max = Absorbância a 535 nm;

Fd = Fator de diluição (1,0);

$E^{1\%}$ 1 cm, = 98,2 (Média das absorvidades molares das antocianinas: cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3-arabinosídeo, peonidina 3-galactosídeo e peonidina 3-arabinosídeo em solução alcoólica de Etanol/HCl, 99:1, v/v);

V = Volume do extrato (ml).

M = Massa da amostra (g).

2.3 ANÁLISE DOS DADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Foi escolhido o bagaço da uva para ser a matriz de extração por ser uma matéria-prima de baixo custo, e com pouca finalidade industrial, e devida sua matéria corante (antocianina) ser um corante natural que pode ser muito utilizado em alimentos.

Para a extração das antocianinas do bagaço da uva, foram utilizados três métodos, para efeito de comparação e ver qual método teria uma maior eficiência e praticidade para extração, sendo os três métodos escolhidos:

1. Extração por Soxhlet
2. Extração por contato direto com etanol
3. Extração por contato direto com etanol + 1% de HC p.a

2.4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO POR EXTRAÇÃO DE SOXHLET

Análises	Extrator Soxhlet
Brix	26
Acidez (g/100ml)	0,01875
Cor 430_{nm}	1,75
Cor 520_{nm}	0,58
Relação de cor $520_{nm}/430_{nm}$	0,33
pH	5,5
Antocianina (mg/100g)	0,73

Tabela 2- resultados da extração pelo método de Soxhlet.

Observou-se que o processo feito pela extração por Soxhlet se tornaria inviável, devido ao seu tamanho de produção, e devido seu preço de compra, não se tornaria viável num primeiro momento, mesmo que tenha tido resultados melhores que por contato direto com apenas etanol.

2.4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO POR CONTATO DIRETO COM ETANOL

Análises	Etanol
Brix	25
Acidez (g/100ml)	0,0165
Cor 430_{nm}	1,41
Cor 520_{nm}	0,45
Relação de cor $520_{nm}/430_{nm}$	0,31
pH	4,5
Antocianina (mg/100g)	0,96

Tabela 3 – Resultados da extração por contato direto com etanol.

Esta análise foi a que apresentou os resultados mais baixos, porém a nível industrial poderia valer a pena devido a facilidade de extração, pois foi deixado o bagaço em um béquer contendo etanol absoluto por uma semana, e foi feita a destilação.

2.4.3 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO POR CONTATO DIRETO COM ETANOL MAIS 1% DE HCL P.A

Análises	Etanol + 1% de HCl
Brix	26
Acidez (g/100ml)	0,225
Cor 430_{nm}	2,5
Cor 520_{nm}	1,114
Relação de cor $520_{nm}/430_{nm}$	0,44
pH	0,5
Antocianina (mg/100g)	3,5

Tabela 4 – Resultado da extração por contato direto com etanol com 1% de HCl.

A análise com etanol com 1% de HCl foi a que apresentou o resultado mais satisfatório devido a sua facilidade de extração, que foi em deixado em um béquer com etanol mais o HCl e deixado por uma semana, e feito a destilação, e para tirar o HCl é apenas esquentando a solução para fazê-lo evaporar 48º C que é o ponto de fusão do HCl. Este seria o método mais viável a se utilizar a nível industrial.

3 CONCLUSÃO

O teor médio de antocianina obtido das amostras foi de 2,85 mg/100 g onde o método com maior teor foi de 3,5 mg/100 g, e o menor foi de 0,73 mg/100 g.

Houve pouca variação no medidor ºBrix, que foi de 25º e 26º.

Houve uma significativa variação na acidez, onde o método de Soxhlet, com menor acidez foi de 0,0187 g /100 ml e a maior acidez foi o que conteve HCl que foi de 0,225 g /100 ml.

Assim o método que apresentou a antocianina com maior teor foi o método em contato direto com o solvente + 1% de HCl, e o menor teor foi o método de Soxhlet, entretanto temos que levar em conta da velocidade das análises onde o método por Soxhlet levou algumas horas, e 10 ciclos no Soxhlet, e em contato direto com o solvente foi deixado em repouso por duas semanas.

REFERÊNCIAS

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Pigmentos naturais. In: BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. (Ed.) Introdução à Química de Alimentos. 2ª ed., São Paulo: Varela, 1995. cap.6, p.190-225.

BRIDLE, P., Timberlake, C.F. (1997). *Anthocyanins as natural food colours*—selected aspects. *Food Chemistry*. 58(1-2): 103-109.

CASTAÑEDA-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E. Rodríguez, J. A. Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113: 859-871.

DEMO, Pedro. Pesquisa e construção de conhecimento: metodologia científica no caminho de Habermas. 7. ed. Rio de Janeiro: Tempo brasileiro, 2012

EVERT, R.F., Eichhorn, S.E., Raven, P.H. (2012). *Raven Biology of plants*. New York: W. H. Freeman.

GROSS, J.; *Pigments in Fruits*, Academic Press: London, 1987.

https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/158152/001019428.pdf?sequence=1 acessado em: 11/08/2020.

He, F., Mu, L., Yan, G.-L., Liang, N.-N., Pan, Q.-H., Wang, J., Reeves, M.J., Duan, C.-Q. (2010). Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes.*Molecules, 15*: 9057-9091.

KERLINGER, Fred Nichols. **Metodologia da pesquisa em ciências sociais:** um tratamento conceitual. 9. ed. Tradução: Helena Mendes Rotundo. São Paulo: EPU, 2003. 378 p.

LIMA, V. L. A. G.de, MÊLO, E. de a., LIMA, U.dos S.; LIMA, D.E.da S. Polpa Congelada de Acerola: Efeito da Temperatura sobre os Teores de Antocianinas e Flavonóis Totais. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 24, n. 3, p. 665-670.

TAIZ, L. Fisiologia Vegetal. / Lincoln Taiz e Eduard Zeinger; trad. Eliana Romanato Santarém3ª ED. Porto Alegre: Artmed. 2004.

SCARMINIO, I. S.; Ishikawa, D. N.; Barreto, W. J.; Paczkowski, E. L.; Arruda, I.C.; *Quim. Nova* 1998.

VOGEL, A. I.; Análise química quantitativa, LTC Ed: Rio de Janeiro, 1992.

VEIGAS, J. M.; Narayan, M. S.; Laxman, P. M.; Neelwarne, B.; *Food Chem.*2007,*105*,619.

.