

## TRIAGEM RÁPIDA PARA DIFERENCIAÇÃO DAS ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS POR DEGRADAÇÃO TÉRMICA

YURE NUNES<sup>1</sup>; GABRIEL BARROS<sup>2</sup>; RENIRES TEIXEIRA<sup>3</sup>; FLÁVIA SILVA<sup>4</sup>;  
FERNANDA CONCENCO<sup>5</sup>; LEONARDO NORA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – a.yrn@usp.br

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabrielbarros95@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – reniresantos@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – flavia.belavista2@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – fernanrocha@yahoo.com.br

<sup>6</sup>Federal de Pelotas – l.nora@me.com

### 1. INTRODUÇÃO

As antocianinas (AC) são pigmentos naturais, encontrados em diferentes estruturas de plantas, pertencentes ao grupo dos flavonoides (LIMA et al., 2021).

Tais pigmentos têm impulsionado estudos na área de alimentos, para utilização como corantes naturais, pois a cor e a aparência são essenciais na aceitação dos produtos pelo consumidor (RIGOLON; OLIVEIRA e STRINGHETA, 2021). Entretanto, durante estudos de viabilidade para seleção da matéria-prima, as extrações das AC demandam procedimentos complexos que permitem identificações e quantificação mais apuradas. Por consequência, métodos referentes à cromatografia líquida de alta eficiência têm sido necessariamente utilizados (LOZADA-RAMÍREZ et al., 2021). No entanto, esses métodos exigem bastante conhecimento por parte do analista, sobretudo durante a aquisição de padrões cromatográficos, necessitando de alto grau de assertividade quando do processo analítico, principalmente quando se trata de matérias-primas com estudos incipientes (LOZADA-RAMÍREZ et al., 2021). Face às exigências mencionadas, a seleção correta de padrões analíticos para identificação e quantificação de AC em extratos vegetais, pouco estudados têm sido fonte de erros na análise das AC manoméricas.

Diante dessas inconveniências, métodos simples e de baixo custo para distinção de AC, em matérias-primas ainda pouco estudadas, úteis para embasar a seleção de padrões analíticos, tornam-se necessárias (LOZADA-RAMÍREZ et al., 2021). Nesse sentido, o trabalho visou a avaliar o efeito da degradação térmica na diferenciação das antocianinas em extratos de amora-preta e de batata-doce roxa.

### 2. METODOLOGIA

#### Extração e quantificação das antocianinas

A extração das antocianinas de amora-preta cv. Cainguá e batata-doce roxa seleção ILS 56 foram realizadas seguindo a metodologia descrita por (ZANNOU & KOCA, 2022), com algumas modificações. Resumindo, cinco gramas de amostra foram misturados em 15 mL de solução de álcool de cereais acidificado (pH= 2,0), homogeneizada em Ultra Turrax na rotação máxima, centrifugada (4000 x g) por 20 minutos, sob refrigeração (0 - °C), sendo o sobrenadante coletados e analisados em espectrofotômetro (SpectraMax® 190 Microplate Reader). A quantificação foi feita utilizando a seguinte equação:

$$[AC] = a + b \times X \times \frac{\text{extrato total (mL)}}{\text{amostra (g)}} \times \frac{(\text{extrato (mL)} + \text{solvente (mL)})}{\text{extrato (mL)}} \times 100$$

Onde: A concentração de antocianinas [AC] é expressada em mg cianidina-3-glicosídeo/100g de amostra.

Os termos "a" e "b" correspondem aos coeficientes linear e angular da equação de regressão, respectivamente, vem da curva padrão e o termo "X" refere-se à absorvância a 535 nm.

### Degradação de térmica

Os extratos de antocianinas em tubos de ensaio foram colocados em banho à temperatura constante de 60 °C, por diferentes tempos (0, 10, 30, 50, 70, 90, 110, 130) minutos, ao abrigo da luz. Ao final dos respectivos tempos de incubação os tubos de ensaio contendo os extratos foram imediatamente imersos por 30 segundos em banho de gelo para paralisar o efeito da desnaturação térmica, sendo reconstituídos os volumes iniciais através da adição do mesmo solvente utilizado na extração (BRAGA et al., 2018). Os resultados de degradação foram expressos pela reação de primeira ordem seguindo a metodologia descrita por DAI, VERPOORTE, & CHOI (2014); e por VERBEYST et al. (2010), de acordo com a equação 1 e meia vida calculado pela equação 2.

$$\ln(C_t/C_0) = k t \text{ (Equação 1)}$$

onde,  $C_0$  é a concentração inicial das antocianinas (mg/100 g de cianidina-3-glicosídeo) e  $C_t$  é a quantidade de antocianinas correspondente ao tempo de degradação (mg/100 g de cianidina-3-glicosídeo),  $k$  é a constante de degradação ( $\text{min}^{-1}$ ), e  $t$  é o tempo de aquecimento (min).

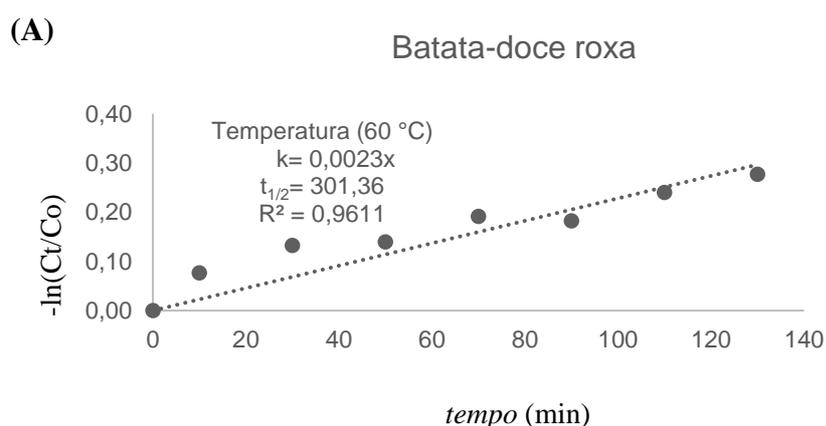
Tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) foi calculada usando a equação 2:

$t_{1/2} = \ln 2/k$  (Equação 2), onde  $k$  é a constante cinética da equação de primeira ordem.

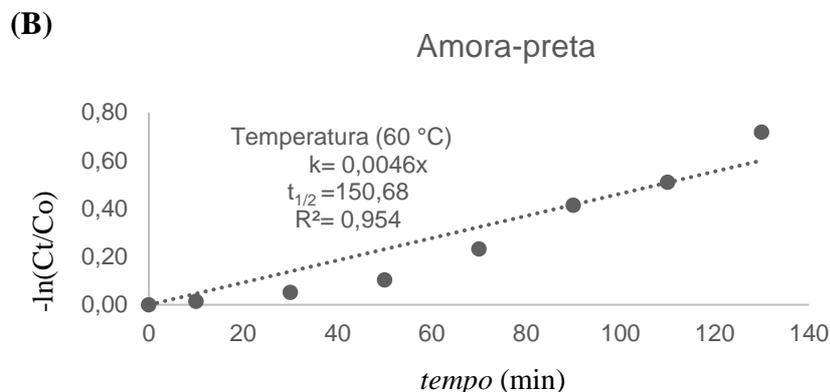
### Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) foi realizada usando a variável resposta quantitativa para testar a significância e normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste T-student para testar a significância pelo programa estatístico R-studio®.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO



(Gráfico 1): Cinética de degradação das antocianinas (cianidina-3-glicosídeo), em batata-doce roxa (A) durante o aquecimento a 60 °C nos tempos de 0, 10, 30, 50, 70, 90, 110 e 130 minutos.



(Gráfico 2): Cinética de degradação das antocianinas (cianidina-3-glicosídeo), em amora-preta (B) durante o aquecimento a 60 °C nos tempos de (0, 10, 30, 50, 70, 90, 110 e 130) minutos.

Torna-se evidente que a viabilidade de extração das antocianinas depende da temperatura de processamento. Notou-se que, o teor das antocianinas durante o tratamento térmico, reduziu linearmente com incremento no tempo de aquecimento, tanto em extratos de batata-doce roxa como em amora-preta (Gráfico A e B), tal como esperado. Não obstante, foi possível observar pelas constantes de taxa de reação (K), que as AC de amora-preta (Gráfico B) degradaram com maior intensidade ( $4,6 \times 10^{-3}$ ) quando comparada com AC de batata-doce roxa (Gráfico A) com taxa de  $2,3 \times 10^{-3}$ , considerando que o valor de K é inversamente proporcional a estabilidade das AC. Este comportamento, também pode ser suportado pelo tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) apresentado nos Gráfico A e B, que revela a necessidade do maior tempo (301 min) para degradação de 50 % das AC de batata-doce roxa, enquanto para as AC de amora-preta verificou-se a necessidade de menor tempo (150 min).

A sensibilidade térmica das AC de forma geral, varia de acordo com a sua composição. Todavia, estudos mostram que as AC com maior predominância de acilação e de alguns metais, tendem a ser mais estáveis frente à degradação térmica, pois, podem formar produtos insolúveis que apresentam mais estabilidade frente à degradação térmica do que as antocianinas mais livres desses componentes (LOPES, et al., 2007; FALCÃO, et al., 2006). Desta forma, assegura-se que as estruturas que compõem as AC de batata-doce roxa, diferem das AC de amora-preta, o que provavelmente podem ser classificadas como petunidinas, compostas de uma ou mais moléculas estabilizantes nas estruturas das AC de batata-doce roxa (ANANGA et al., 2013).

#### 4. CONCLUSÕES

As AC de batata-doce roxa apresentaram maior estabilidade à degradação térmica, indicando que diferem estruturalmente na composição química das antocianinas majoritárias quando comparado a amora-preta.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANANGA, ANTHONY & GEORGIEV, VASIL & OCHIENG, JOEL & PHILLS, BOBBY & TSOLOVA, VIOLETA. Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetic Industries. 10.5772/3442. 2013.
- BRAGA, A. R. C. M. D. C. M. L. M. S. D. R. V. V. Bioavailability of anthocyanins: Gaps in knowledge, challenges and future research. **Journal of Food Composition and Analysis**, 31-40. 2018.
- DAI, Y., VERPOORTE, R., & CHOI, Y. H. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chemistry*, 159, 116–121. 2014.
- FALCÃO, L. D. et al. COPIGMENTAÇÃO INTRA E INTERMOLECULAR DE ANTOCIANINAS: UMA REVISÃO. B. CEPPA, Curitiba, Jul-Dez, 351-366. 2006.
- Lima, Á S, Oliveira, B S de Shabudin, S V, Almeida, M, Freire, M G, & Bica, K. Purification of anthocyanins from grape pomace by centrifugal partition chromatography. *Journal of Molecular Liquids*, 326, 115324. 2021.
- LOPES, T. J. et al. ANTOCIANINAS: UMA BREVE REVISÃO DAS CARACTERÍSTICAS. R. Bras. Agrocência, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, set 2007.
- LOZADA-RAMÍREZ, J.D.; ORTEGA-REGULES, A.E.; HERNÁNDEZ, L.R.; ANAYA DE PARRODI, C. Spectroscopic and Spectrometric Applications for the Identification of Bioactive Compounds from Vegetal Extracts. *Appl. Sci.*, 11, 3039. 2021.
- RIGOLON, T C B; Oliveira, I R N; STRINGHETA, P C. Antocianinas. In: STRINGHETA, P C e Freitas, P A V. **Corantes naturais: da diversidade da natureza as aplicações e benefícios**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, Cap. 1, p. 17-53. 2021.
- VERBEYST, L., OEY, I., VAN DER PLANCKEN, I., HENDRICKX, M., & VAN LOEY, A. Kinetic study on the thermal and pressure degradation of anthocyanins in strawberries. *Food Chemistry*, 123(2), 269–274. 2010.
- ZANNOU, O., & KOCA, I. Greener extraction of anthocyanins and antioxidant activity from blackberry (*Rubus spp*) using natural deep eutectic solvents. *LWT*, 158, 113184. 2022.