

Euterpe edulis. Foto: Cristiane Vieira Helm

Metodologia para Obtenção de Antocianinas de Frutos de Juçara (*Euterpe edulis*)

Maria José Mazega Figueredo¹

Thaís Aiex Ferreira¹

Andrea Regina Zacarias Silva²

Cristiane Vieira Helm³

Fabício Augusto Hansel⁴

A juçara (*Euterpe edulis* Martius) é uma palmeira nativa da Floresta Atlântica, cujo palmito era originalmente utilizado pelos indígenas residentes na área de domínio da floresta tropical atlântica e que até as décadas de 1930/40 era vendido *in natura* em feiras nos grandes mercados consumidores. Porém, a partir da década de 50, teve início a comercialização do produto industrializado, com estímulo à exploração predatória do palmiteiro (MACEDO, 1971; REIS et al., 2000 citado por CORSO, 2003).

Uma característica da juçara é que se trata de uma palmeira unicaule, portanto não produz perfilhos, o que significa que a extração do palmito implica na morte da planta (SILVA et al., 2007). O uso extrativista do palmito de juçara colocou a planta na lista de espécies ameaçadas de extinção. Uma das formas de reverter esta situação é estimular o consumo da polpa de juçara, conforme já vem sendo feito com outra palmeira do gênero *Euterpe*, que é o açaí (*E. oleracea* Martius). A polpa do açaí já tem um mercado interno e externo assegurado, e sua matéria-prima é usada na

confeção de sucos, bombons, sorvetes, cremes, entre outros. A exploração extrativista dos frutos do açaí na Amazônia gira em torno de 200 mil toneladas de polpa, oriundas principalmente do Estado do Pará (RIBEIRO, 2007). Entretanto, outros nichos de mercado começam a se abrir para essa palmeira: a extração do corante dos frutos, em estudos realizados por Nazaré et al. (2002) e Bobbio et al. (2007), que identificaram as duas principais antocianinas presentes na casca dos frutos de açaí, cianidina-3-arabinosídeo e cianidina-3-arabinosífl-arabinosídeo. Esses autores concluíram que o corante extraído dos frutos maduros do açazeiro apresenta boa estabilidade em processamentos em temperaturas elevadas e ausência de efeitos tóxicos, o que o torna viável para a obtenção de antocianinas para uso como corante natural.

A experiência consolidada do açaí vem servindo de norteador para a juçara e já existem algumas experiências comerciais pontuais no Sul e no Sudeste do Brasil, como Santa Catarina, Paraná e São Paulo, e no sul da Bahia, onde o suco da polpa é ofertado em

¹Graduandas de Nutrição, Faculdades Integradas Espírita. mj_figueredo@hotmail.com; taisaiexferreira@gmail.com

²Engenheira de Alimentos, Mestre, Professora das Faculdades Integradas Espírita. andrea.fies@hotmail.com

³Química Industrial, Doutora, Pesquisadora da *Embrapa Florestas*. cristiane@cnpf.embrapa.br

⁴Químico, Doutor, Analista da *Embrapa Florestas*. hansel@cnpf.embrapa.br

pequeno volume, devido à escassez do fruto, porém com grande aceitação, principalmente pelo sabor mais adocicado que o do açaí (SILVA et al., 2007).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia para a obtenção de corante alimentício (antocianinas) a partir dos pigmentos presentes nos frutos de juçara.

Este trabalho foi realizado nos Laboratórios de Química e de Bioquímica das Faculdades Integradas Espírita (FIES) e nos Laboratórios de Microbiologia, de Genética e de Solos da *Embrapa Florestas*.

A matéria-prima utilizada foram frutos maduros de juçara, coletados aleatoriamente em plantas nativas da Mata Atlântica no Município de Morretes, região litorânea do Estado do Paraná, no mês de maio de 2008.

Obtenção do extrato bruto

A extração do corante da juçara foi realizada utilizando-se o método descrito por Nazaré et al. (2002), que constou de maceração a frio, na proporção de uma parte de frutos maduros de juçara para duas partes de solvente constituído por álcool etílico 70 % acidificado com ácido clorídrico a pH 3,0. O material foi mantido em maceração por 48 horas em temperatura ambiente, em recipiente de aço inoxidável tampado, sendo homogeneizado por agitação manual lenta a cada 6 horas. Após esse período, o material foi coado em peneira de aço inoxidável e transferido para recipientes de vidro âmbar, que foram mantidos a 4 °C até o momento da filtração a vácuo. O extrato filtrado foi concentrado em evaporador rotativo, a uma temperatura de 75 °C até atingir uma quantidade de 30 % do volume inicial. O extrato concentrado foi transferido para vasilhames de vidro âmbar e armazenado a 4 °C. Parte do material foi preservado pelo método de liofilização.

Determinação de sólidos totais do extrato concentrado

A determinação dos sólidos totais foi realizada pelo método de secagem em estufa a temperatura de 102 °C, em triplicata, até peso constante da amostra (CECCHI, 1999).

$$\text{Umidade por cento m/m} = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde, N = perda de massa em gramas

P = gramas da amostra

Sólidos totais = 100 – umidade

Análise espectrofotometria no UV-Visível

A análise foi realizada com uma alíquota de 4 mL do extrato concentrado, diluída em 50 mL da solução de etanol acidificada (pH = 3,0), e com o material liofilizado dissolvido em solução de etanol 70 %, pH 3,0, na concentração de 0,95 g.L⁻¹. Os espectros de absorvância foram obtidos na faixa de comprimento de onda entre 350 nm e 700 nm. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro Perkin Elmer, modelo UV/VIS Lambda 20. Como branco foi utilizada a mesma solução de etanol:HCl (álcool etílico 70 % a pH 3,0) (ALVES et al., 2007).

Reações de caracterização de antocianinas

Em soluções aquosas, as antocianinas têm a capacidade de apresentar diferentes estruturas em função do pH, razão pela qual esses extratos são utilizados como indicadores em titulações ácido-base. Essas colorações podem ser facilmente identificadas por observações visuais (RAMOS et al., 2000; TERCI et al., 2002). Para comprovar o caráter ácido-base do extrato concentrado dos frutos da juçara, utilizou-se solução tampão citrato/fosfato em pH 2,0; 5,0; 7,0 e 9,0

Reação com cloreto férrico (FeCl₃)

De acordo com o tipo de composto flavonoídico presente na amostra, em presença de cloreto férrico, o extrato desenvolve coloração que pode variar entre verde, amarelo-castanho e violeta (MOUCO et al., 2003). Para verificação da presença de flavonóides, adicionaram-se duas gotas de cloreto férrico a 2,5 %, a uma alíquota de 1,0 mL do extrato bruto concentrado (KUKOSKI, 2000).

Reconhecimento de antocianinas

Em 1,0 mL de extrato bruto foi adicionado 0,5 mL de hidróxido de sódio a 10 %, para reconhecimento de antocianinas no extrato. Esse reconhecimento é possível devido ao comportamento como indicadores ácido-base apresentado pelas antocianinas que em pH ácido apresentam colorações vermelho e violeta e em pH alcalino apresentam colorações verde e azul (MARTÍNEZ, 2005).

Reação da cianidina ou Ensaio de Shinoda

Cerca de 3,0 mL do extrato bruto foram aquecidos em estufa a 80 °C até secagem completa. Em seguida, foram dissolvidos em 1,5 mL de metanol e transferidos para tubo de ensaio onde foram adicionados dois fragmentos de magnésio e 0,5 mL de ácido clorídrico concentrado. Dependendo da sua estrutura química, cada flavonóide vai apresentar uma reação própria por ação do magnésio em presença do HCl concentrado. Assim, flavona desenvolve coloração amarelo a vermelho; flavonol ou diidroflavonol, vermelho a vermelho sangue; flavona, vermelho a violeta; derivados antociânicos, vermelho, tornando-se rosa; chalconas, auronas, diidrochalconas, isoflavonas e isoflavanonas apresentam reação negativa, sem coloração (MARTÍNEZ, 2005).

Extração das antocianinas dos frutos da juçara

A maceração a frio descrita por Nazaré et al. (2002), utilizada neste trabalho, mostrou-se adequada para extração de antocianinas de frutos de juçara. O extrato bruto obtido apresentou características similares ao extrato dos frutos do açaí, com intensa coloração púrpura (Fig. 1).

Embora o extrato tenha sido armazenado em temperatura de aproximadamente 6 °C por quatro meses consecutivos, não se verificaram alterações visíveis na coloração e no aspecto geral do extrato.



Fig. 1. Extrato de frutos de juçara obtido por maceração a frio.

Concentração do extrato bruto

O melhor rendimento foi observado em temperatura de 75 °C e volume de 400 mL. Nesta temperatura e com

este volume inicial, após 11 horas, chegou-se a uma quantidade de 21,2 % do volume inicial, enquanto que em temperatura de 65 °C por 8 horas, foram atingidos valores de 30 %. Embora não tenha relatado o tempo utilizado, Nazaré et al. (2007), trabalhando com extrato de frutos de açaí, atingiram valores entre 15 % e 20 % com a temperatura de 50 °C.

Não se verificaram alterações quando o extrato foi submetido a tratamento térmico em temperatura de 75 °C por quatro horas. Portanto, os dados obtidos neste trabalho assemelham-se aos resultados de Nazaré et al. (2007), evidenciando a estabilidade do extrato à temperatura e à adequabilidade da técnica de extração.

Teor de sólidos totais

Obteve-se um volume de sólidos totais igual a 1,13 %. Este processo de secagem mostrou-se viável e compatível com os valores obtidos com a liofilização. Além disso, o processo não provocou alteração de cor visível, comprovando a estabilidade do extrato em relação a diferentes temperaturas.

Liofilização

Através deste processo obteve-se 1,15 % de sólidos. O extrato bruto dos frutos de juçara liofilizado não apresentou qualquer alteração quando comparado ao extrato bruto não liofilizado, apresentando sua absorbância máxima em 534 nm (Fig. 2).

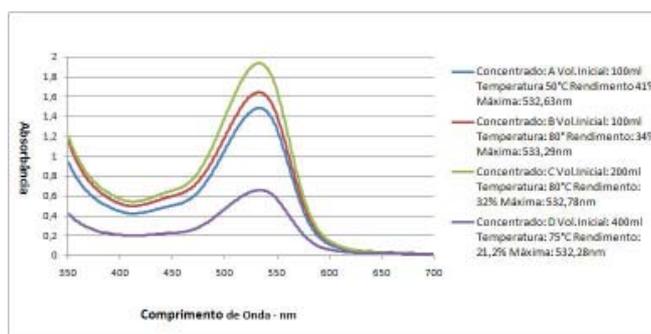


Fig. 2. Espectro de absorção UV-Visível da solução de pigmentos de Juçara antes e após liofilização.

Reação de caracterização de antocianinas

Em meio extremamente ácido (pH entre 1,0-2,0) as antocianinas apresentam uma intensa coloração vermelha, pois há o predomínio da forma cátion flavílico. Porém, ao se aumentar o pH do meio, próximo de 6,0, as antocianinas perdem a cor até

tornarem-se praticamente incolores, pela predominância da espécie pseudobase carbinol. Em valores acima do pH 6,0 ocorre ruptura do anel heterocíclico e forma-se a espécie cis-chalcona, com coloração amarela. Dependendo do tipo de antocianina, esta reação pode ser irreversível (MARÇO; POPPI, 2008).

O extrato bruto concentrado foi diluído em solução tampão citrato/fosfato a 2,0; 5,0; 7,0 e 9,0 e apresentou comportamento semelhante àqueles encontrados por Terci et al. (2002) e Ramos et al. (2000), compatíveis com pigmentos antociânicos (Fig.3).



Fig. 3. Reação do extrato bruto de juçara em diferentes valores de pH, 2, 5, 7 e 9, respectivamente.

Leitura de absorbância máxima

Os valores do comprimento de onda obtidos neste trabalho para as quatro amostras de extrato concentrado apresentaram picos máximos de absorbância de 532 nm a 533 nm (Fig. 4). Os espectros obtidos são característicos de antocianinas, cuja absorção máxima no visível estão na faixa de 500 nm a 550 nm (BOBBIO; BOBBIO, 1992 citados por LOPES, 2002)

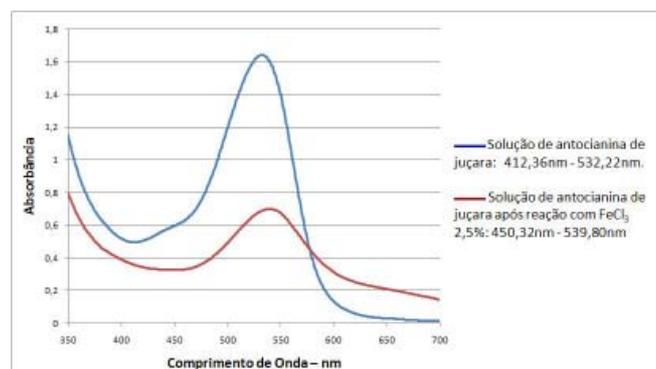


Fig. 4. Espectros de absorção UV-Visível de diferentes concentrados de pigmentos dos frutos de juçara.

Reação com cloreto férrico (FeCl_3)

De acordo com o tipo de composto flavonoídico presente na amostra, o extrato desenvolve coloração que pode variar entre verde, amarelo-castanho e violeta, quando é adicionado cloreto férrico (MOUCO et al., 2003). O extrato bruto dos frutos de juçara desenvolveu coloração violeta e apresentou um deslocamento no comprimento máximo de absorção de 8 nm quando foi adicionado cloreto férrico a 2,5 %, indicando a presença de fenóis no concentrado (Fig. 5).

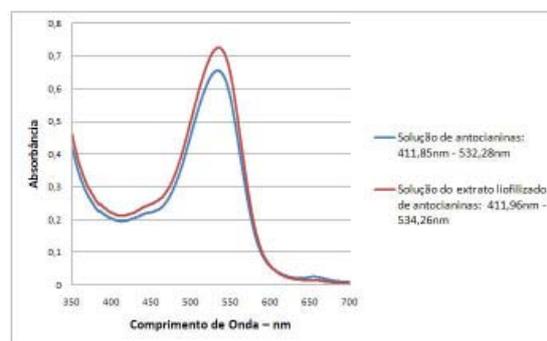


Fig. 5. Espectro de absorção UV-Visível de solução de antocianina de Juçara após a reação com FeCl_3 2,5 %, apresentando pequeno deslocamento batocrômico.

Reconhecimento de antocianinas

Uma das principais características das antocianinas é o seu comportamento ácido-base, apresentando coloração intensamente avermelhada em meio ácido e coloração verde e azul em pH alcalino (MARÇO; POPPI, 2008). O extrato concentrado dos frutos da juçara apresentou coloração verde quando foi adicionado hidróxido de sódio a 10 %. Esta reação indica a presença de antocianinas no extrato obtido dos frutos de juçara (MARTÍNEZ, 2005).

Reação da cianidina ou Ensaio de Shinoda

A reação apresentada pelo extrato por ação do magnésio em presença de HCl concentrado mostrou resultados positivos para o extrato de frutos de juçara, indicando a presença de flavonol ou diidroflavonol, caracterizado pelo desenvolvimento de coloração vermelho sangue (Fig. 6) (KUSKOSKI, 2000).



Fig. 6. Extrato concentrado de pigmentos dos frutos da juçara após Ensaio de Shinoda, apresentando cor vermelho sangue por ação do magnésio em presença do HCl concentrado.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a metodologia de extração de pigmentos por maceração a frio com uso de etanol acidificado é adequada para os frutos de juçara (*Euterpe edulis*, M.), e que as análises das características físico-químicas realizadas a partir desses extratos indicam a presença de antocianinas nas cascas e polpa desses frutos.

Assim como a polpa do açaí (*Euterpe oleraceae*, M.), a polpa obtida pela maceração dos frutos da juçara não apresenta efeitos tóxicos, um dos fatores que a torna uma matéria-prima viável para a obtenção de antocianinas para uso como corante natural.

Outra característica observada e que leva à conclusão de que os pigmentos presentes na polpa e na casca dos frutos de juçara apresentam potencialidade para uso como corantes naturais foi a constatação de sua estabilidade a diferentes temperaturas, observada durante os processos de concentração do extrato bruto e de secagem em estufa, assim como durante o processamento de liofilização. Durante esses procedimentos, o extrato foi submetido a temperaturas que variaram entre -18 °C e 102 °C, sem qualquer alteração na sua coloração inicial.

Referências

ALVES, L. W. R.; CARDOSO, M. G.; MUNIZ, F. R.; SALGADO, A. P. S. P.; SOUZA, I. F.; NELSON, D. L. Caracterização e quantificação de benzoxazolinona (BOA) em extratos de plantas de milho (*Zea mays*, L.). *Acta Science Agronomy*, Maringá, v. 29, n. 3, p. 303-308, 2007.

BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 20, n. 3, Set./Dez. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-061200000300018&script=sci_arttext>. Acesso em: 11 nov. 2007.

CECCHI, H. M. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. Campinas: Ed. da Unicamp, 1999. 212 p.

CORSO, N. M. *O Agronegócio do palmito no Paraná: situação atual e perspectivas*. 2003, 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

KUSKOSKI, E. M. *Extração, identificação e estabilidade de frutos de baguaçu (*Eugenia umbelliflora*, Berg)*. 2000. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

LOPES, T. J. *Adsorção de antocianinas do repolho roxo em argilas*. 2002. 125 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MACEDO, J. H. P. Palmito: uma grande fonte de divisa II. *Revista Floresta*, Curitiba, v. 3, n. 1, p. 29-34, 1971.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. *Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais*. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MARTÍNEZ M., A. *Flavonóides*. Medellín: Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica, 2005. 76 p. Disponível em: <<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2008.

MOUCO, G.; BERNARDINO, M. J.; CORNÉLIO, M. L. Controle de qualidade de ervas medicinais. *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n. 31, p. 68-73, jul./dez., 2003.

NAZARÉ, R. F. R.; OLIVEIRA, M. S. P. de; CARVALHO, J. E. U. de. Avaliação de progênies de açaizeiro como fonte de corantes naturais para alimentos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém, PA. *Anais*. Belém, PA: SBF, 2002. Disponível em: <http://www.cpatu.embrapa.br/memoria_tecnica/eup_0009.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2007.

RAMOS, L. A.; LUPETTI, K. O.; CAVALHEIRO, E. T. G.; FATIBELLO-FILHO, O. Utilização do extrato bruto de frutos de *Solanum nigrum* L. no ensino de química. *Eclética Química*, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 229-240, 2000.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. Flavonóides. In: RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. (Ed.). *Química de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2007. p. 157-167.

SILVA, M. G. C. P. C.; BARRETTO, W. S.; SERÓDIO, M. H. *Comparação nutricional da polpa dos frutos de juçara e de açaí*. Disponível em <<http://www.ceplac.gov.br/radar/compara%C3%A7%C3%A3o%20nutricional%20da%20polpa%20de%20ju%C3%A7ara%20e%20a%C3%A7a%C3%AD.pdf>>. Acesso em: 3 dez. 2007.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? *Química Nova*, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

Comunicado Técnico, 209

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Florestas

Endereço: Estrada da Ribeira Km 111, CP 319

Fone / Fax: (0**) 41 3675-5600

E-mail: sac@cnpf.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2008): conforme demanda

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Comitê de Publicações

Presidente: *Patrícia Póvoa de Mattos*

Secretária-Executiva: *Elisabete Marques Oaida*

Membros: *Álvaro Figueredo dos Santos, Dalva Luiz de Queiroz Santana, Edilson Batista de Oliveira, Elenice Fritzsos, Jorge Ribaski, José Alfredo Sturion, Maria Augusta Doetzer Rosot, Sérgio Ahrens*

Expediente

Supervisão editorial: *Patrícia Póvoa de Mattos*

Revisão de texto: *Mauro Marcelo Berté*

Normalização bibliográfica: *Elizabeth Câmara Trevisan*

Editoração eletrônica: *Mauro Marcelo Berté*