

Isis Rodrigues Toledo Renhe

EXTRAÇÃO E ESTABILIDADE DO CORANTE AZUL  
DE JENIPAPO (*Genipa americana* L.)

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

Viçosa  
Minas Gerais – Brasil  
2008

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

R412e  
2008

Renhe, Isis Rodrigues Toledo, 1981-  
Extração e estabilidade do corante azul de jenipapo  
(*Genipa americana* L.) / Isis Rodrigues Toledo Renhe.  
– Viçosa, MG, 2008.  
xi, 49f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Paulo César Stringheta.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 46-49.

1. Alimentos - Aditivos. 2. Jenipapo - Corantes.  
3. Extração (Química) - Corantes. 4. *Genipa americana* L.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 664.06

**ISIS RODRIGUES TOLEDO RENHE**

**EXTRAÇÃO E ESTABILIDADE DO CORANTE AZUL DE  
JENIPAPO (*Genipa americana* L.)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

APROVADA: 17 de abril de 2008.

---

Prof<sup>ª</sup>. Nilda de Fátima Ferreira Soares  
(Co-orientadora)

---

Prof<sup>ª</sup>. Tânia Toledo de Oliveira  
(Co-orientadora)

---

Dra. Aline Manke Nachtigall

---

Prof. Fabyano Fonseca e Silva

---

Prof. Paulo César Stringheta  
(Orientador)

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. Introdução Geral	1
2. Revisão Bibliográfica	
2.1. Cor no Alimento	4
2.2. A cor e sua Avaliação Instrumental	6
2.3. Jenipapo	10
2.3.1. Caracterização Físico-Química do Fruto	13
2.3.2. Extração de Corante de Jenipapo	17
Capítulo 1 – Efeito do pH, Temperatura e Solventes Sobre a Extração de Corante de Jenipapo	
1. Introdução	21
2. Material e Métodos	23
3. Resultados e Discussão	25
4. Conclusão	30
Capítulo 2 – Influência de pH, Oxigênio e Luz na Estabilidade da Cor dos Extratos	
1. Introdução	31
2. Material e Métodos	33
3. Resultados e discussão	35
3.1. Estabilidade dos Extratos Obtidos com Etanol 50%	37
3.2. Estabilidade dos Extratos Obtidos com Etanol 95%	40
4. Conclusão	43
CONCLUSÃO GERAL	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 -	Composição química dos frutos de jenipapo verde, “de vez” e maduro	15
CAPÍTULO 1 – EFEITO DO pH, TEMPERATURA E SOLVENTES SOBRE A EXTRAÇÃO DE CORANTE DE JENIPAPO		
Tabela 1 -	Média dos valores quantitativos para características de cor dos extratos obtidos nas diferentes condições de pH e temperatura utilizados na extração	26
CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DE pH, OXIGÊNIO E LUZ NA ESTABILIDADE DA COR DOS EXTRATOS OBTIDOS		
Tabela 1 -	Médias dos desvios dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	38
Tabela 2 -	Médias de croma ou saturação da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	39
Tabela 3 -	Médias de tonalidade da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	40
Tabela 4 -	Médias de desvio da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	41
Tabela 5 -	Médias de croma e saturação da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	42
Tabela 6 -	Médias de tonalidade da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	43

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 -	Sólido de Hunter	9
Figura 2 -	Estrutura química do ácido geniposídico (A) e do geniposídeo (B)	12
Figura 3 -	Estrutura química da genipina	12
Figura 4 -	Reações cruzadas envolvendo genipina	20

### CAPÍTULO 1 – EFEITO DO pH, TEMPERATURA E SOLVENTES SOBRE A EXTRAÇÃO DE CORANTE DE JENIPAPO

Figura 1 -	Extratos de corante de jenipapo obtidos em diversas condições	25
Figura 2 -	Curva de superfície de resposta do desvio do extrato para as variáveis pH e temperatura	27
Figura 3 -	Comportamento da coloração expressa em desvio na extração com solvente etanol 50% em relação à temperatura	28
Figura 4 -	Comportamento da coloração expressa em desvio na extração com solvente etanol 95% em relação à temperatura	28
Figura 5 -	Comportamento da coloração expressa em desvio na extração com solvente água em relação à temperatura	29
Figura 6 -	Fruto verde de jenipapo normal (A) e com formação prévia de coloração azul (B)	30

### CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DE pH, OXIGÊNIO E LUZ NA ESTABILIDADE DA COR DOS EXTRATOS OBTIDOS

Figura 1 -	Fluxograma representativo do experimento do estudo da estabilidade dos extratos	34
Figura 2 -	Comportamento do desvio em relação ao padrão dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	36
Figura 3 -	Comportamento do desvio em relação ao padrão dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência)	36

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que sempre me incentivaram, serviram de exemplo e que compartilharam dos meus sonhos. Tudo que sou devo a vocês.

À minha família, em especial à minha irmã e avós, que sempre acreditaram que eu podia ir além e que estão sempre torcendo por mim.

Ao Rafael pelo amor, companheirismo, apoio e paciência incondicionais, sem os quais seria muito mais difícil chegar até aqui. Obrigada por fazer parte da minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realização desse mestrado.

Ao Professor Paulo César Stringheta, por toda orientação e pela confiança depositada em mim.

Ao Professor Fabyano Fonseca e Silva, pela prontidão com que sempre me atendeu e pela ajuda na parte estatística, tornando sólida toda a discussão desse trabalho.

À Professora Nilda de Fátima Ferreira Soares por todas as críticas e sugestões, por ajudar a enriquecer e melhorar esse trabalho.

À Aline Manke Nachtigall pela companhia e conselhos durante a execução desse trabalho e, em especial, por todas as sugestões e correções apresentadas antes e durante a defesa.

À Taila, que sempre esteve disposta a me ajudar e se comprometeu com essa tese como se fosse sua. Obrigada pela companhia e amizade.

À Pollyanna por todas as dicas e pela amizade e a Priscila pela companhia e ajuda no laboratório.

Ao Valério que sempre que possível me ajudou na execução desse trabalho e pela disponibilidade em resolver todos os imprevistos e contratemplos.

À Andréia que entendeu minha dificuldade e à sua mãe que se prontificou a conseguir jenipapo para que essa tese se realizasse.

Ao Celso e o pessoal do horto que se empenharam em conseguir frutos para meus primeiros testes.

A tantos amigos que fizeram parte da minha história em Viçosa e àqueles que mesmo de longe sempre torceram por mim. Em especial aqueles que estiveram presentes no

decorrer do mestrado: ao Dudu BQI e a Ana Carol por toda força e companhia, a Gabi, a Marina e a Nathi pela acolhida na nossa velha república, a Aline que me deu paz quando precisei, ao Tofe que sempre “tira o meu sossego”, e àqueles que sempre estiveram presentes, como a Júnia, a Talita, a Vanessa, a Fafá, o Fellipe, o Jorginho, o Denis e o Fred.

Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para a execução e o desenvolvimento dessa tese. Espero não ter esquecido ninguém.



## BIOGRAFIA

ISIS RODRIGUES TOLEDO RENHE, filha de Sylvio Renhe Júnior e Ione Rodrigues Toledo Renhe, nasceu em Juiz de Fora, Minas Gerais, em 13 de janeiro de 1981.

Em 1999 formou-se Técnica em Laticínios pelo Instituto de Laticínios “Cândido Tostes” em Juiz de Fora, Minas Gerais.

Graduou-se Engenheira de Alimentos em janeiro de 2005, pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em outubro de 2007 ingressou no curso de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, defendendo tese em abril de 2008.

## RESUMO

RENHE, Isis Rodrigues Toledo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2008.

**Extração e estabilidade do Corante azul de Jenipapo (*Genipa americana L.*).**

Orientador: Paulo César Stringheta. Co-orientadores: Nilda de Fátima Soares e Tânia Toledo de Oliveira.

O presente trabalho teve por objetivo a avaliação da potencialidade do fruto do jenipapo como fonte de corante azul natural, objetivando torná-lo tecnicamente viável, bem como identificar o solvente adequado para a extração dos pigmentos do jenipapo, avaliar o efeito do pH e da temperatura na produção do corante, e estudar a estabilidade dos pigmentos obtidos por diferentes solventes. Para a obtenção do corante o experimento foi conduzido para três níveis de solvente (água, solução aquosa de etanol 50% e álcool etílico 95%); seis níveis de pH (4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0); e cinco níveis de temperatura (35; 45; 55; 65 e 75°C), totalizando 90 tratamentos. Os corantes obtidos foram avaliados por colorimetria quanto ao desvio em relação ao padrão sintético azul de indigotina, sendo considerados melhores aqueles que apresentaram menor desvio. Visualmente observou-se um maior escurecimento do azul, com tendência ao preto, quando a temperatura foi aumentada, sem, entretanto, descaracterizar a cor. As melhores condições obtidas foram em pH 4,0 a 75°C. O mesmo valor de temperatura foi considerado ótimo para os solventes etanólicos, porém o ótimo para água foi de 55°C. Para os testes de estabilidade foram feitas extrações com os solventes etanólicos (50% e 95%), pois foram os que apresentaram visualmente maior poder extrator, originando extratos com maior intensidade da cor azul. A escolha dos solventes alcoólicos em detrimento da água foi também fundamentada na viabilidade econômica da obtenção dos corantes, uma vez que a eliminação de água torna o processo demorado e caro. As extrações foram efetuadas nas condições ótimas definidas nos testes de extração no capítulo 1: pH 4,0 e 75°C. Os parâmetros avaliados foram pH, oxigênio e luz. Os extratos foram adicionados de solução tampão e anti-fúngico, colocados em vidros fechados, e armazenados. As amostras foram divididas em duas soluções-tampão de pH distintos (4,0 e 6,0) e as amostras foram novamente divididas em outros dois grupos, sendo um das amostras que foram simplesmente lacradas e outro que recebeu nitrogênio antes de

ser lacrado. Antes do armazenamento houve uma nova divisão para avaliar o parâmetro luz, onde um grupo foi protegido de qualquer luminosidade e outro ficou diretamente exposto a luz UV. Para a solução de etanol 50%, o tratamento nas condições de pH 4,0 / oxigênio / escuro foi aquele que apresentou melhor manutenção da cor e maior saturação. Para o solvente etanol 95% observou-se uma menor estabilidade nos tratamentos em maior pH (6,0), com pior desempenho quando o pH 6,0 estava associado à presença de oxigênio e luz. Na saturação da cor o inverso foi observado, com melhor desempenho dos tratamentos em pH 6,0 e destaque para as condições de pH 6,0 / oxigênio / escuro. Com esse trabalho foi possível observar que o jenipapo é uma fonte potencial para a obtenção de corante azul natural, apresentando inúmeras variações de tonalidade que podem ser obtidas alterando-se as condições de extração, e exploradas de acordo com a intenção de aplicação. A obtenção desse corante azul complementa a disponibilidade das cores primárias na forma de corantes naturais, permitindo a combinação para obtenção das demais colorações para alimentos.

## ABSTRACT

RENHE, Isis Rodrigues Toledo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2008.

**Extraction and estabily of blue colorant from Jenipapo (*Genipa americana L.*).**

Advisor: Paulo César Stringheta. Co-advisors: Nilda de Fátima Soares and Tânia Toledo de Oliveira.

The aim of this present study was to evaluate the jenipapo fruit as a natural blue colorant source to make it technical viable, as well as identify the best solvent to extract jenipapo's pigment, evaluate the pH and temperature effects on colorant production and colorant stability obtained from different solvents. The colorant was obtaining using three different solvents (water, alcohol water solution 50%, and alcohol 95%), six different pHs (4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0); and five different temperatures (35; 45; 55; 65 e 75°C) in a total of 90 treatments. These colorants were analyzed for color measurement. The best condition of extraction was pH 4,0 at 75°C. The same temperature was the best to extract in alcohol solvents but not to water. The best temperature to water extraction was 55°C. The best conditions (pH 4,0 a 75°C) was used to obtain alcohol extracts and then analyzed the stability. It was chose the alcohol extracts because they showed the best colors and it is less expansive eliminated alcohol than water. The extracts were added with buffer and antifungal solutions and then they were storage in recipients to observe the effect of pH, oxygen and light. Samples were divided in two different pH buffer solution (4,0 and 6,0) then it was split in two groups, one of them receiving nitrogen before be sealed and the other still with the local atmosphere. After that another split was done and one group was put out of light and the other was put directly into UV light to evaluate light influence. There was a significant influence between conditions and time of storage in both of extract solutions alcohol 50% and 95%. On alcohol 50%, the best conditions were pH 4,0 / oxygen / dark and was that one who was the best to maintain the color and saturation. On alcohol 95%, the smallest stability was observed in pH 6,0 and the worse condition was identified when occurred presence of oxygen and light. It was observed the opposite in saturation with the best saturation in pH 6,0. It was possible observe with this study that jenipapo is an

interesting natural source of blue pigment because it is possible to obtain a lot of different blue colors changing the extractions conditions.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Os corantes vêm sendo empregados há milhares de anos. Em 5.000 a.C. há relatos do uso de corantes em cosméticos e a partir de 1500 a.C os corantes naturais como a cúrcuma, a paprica e o aafrao passaram a ser utilizados para colorir alimentos (MASCARENHAS, 1998). Os corantes naturais foram os pioneiros na arte de colorir, adquirindo maior poder tintorial e durabilidade pela adiao de sais de alumínio e ferro.

A partir do século XIX passou-se a extrair e produzir corantes sintéticos, sendo denominados também de artificiais, e utilizados nos alimentos para conferir cor ou repor a cor natural perdida durante os processos de industrializaao e/ou estocagem. A aparência e a cor de um alimento estão relacionadas com a aceitaao e o desejo do consumidor em consumir um produto, afetando a reaao inicial. Ela também está relacionada com a qualidade de um alimento.

Os corantes podem ser adicionados ao alimento com o objetivo de reforçar a cor presente no alimento, uniformizar a cor, restaurar a aparência original do alimento cuja cor foi afetada pelo processamento e ainda, para colorir alimentos que normalmente não possuem cor, como aucar e refrigerante (HENRY, 1996).

Os corantes sempre geraram muita controvérsia entre os pesquisadores, órgãos governamentais e consumidores. Há linhas que defendem a utilizaçao dos corantes sintéticos, outras defendem a sua substituiao pelos corantes naturais e, ainda, há aqueles que acham desnecessária sua aplicaçao. No entanto, há um consenso geral de que a busca por alimentos mais saudáveis, por parte dos consumidores, tem levado a uma substituiao dos corantes sintéticos pelos naturais. Em alguns países o emprego dos corantes sintéticos  até mesmo proibido como  o caso da Noruega e Suca.

A busca por qualidade de vida e o desejo de uma vida saudável resultam na procura por alimentos naturais. Os corantes naturais vo de encontro com esse desejo porque além de conferirem cor aos alimentos, podem contribuir com propriedades sensoriais, além de ser uma fonte importante de compostos antioxidantes e substâncias antimicrobianas. Dentre os corantes naturais utilizados na indústria de alimentos, os principais são urucum, cúrcuma, carmim, pplicas, antocianinas e clorofila (MASCARENHAS, 1998).

Nos últimos anos, a inocuidade dos corantes sintéticos começou a ser questionada, levando à proibição de alguns deles em função da descoberta de suas toxicidades. Devido a essa limitação e à tendência mundial de consumir produtos chamados “naturais”, o interesse pelos corantes naturais tem crescido substancialmente (ROSA, 2004).

As indústrias que utilizam corantes sintéticos usam como justificativa o fato de os corantes naturais apresentarem aplicação limitada devido a fatores como a reduzida estabilidade à luz; estabilidade a uma faixa restrita de pH e temperatura; baixa uniformidade entre os diferentes lotes; necessidade de purificação do extrato, que leva à produção em quantidades bem menores do que as necessidades do mercado, e baixo poder tintorial, quando comparados aos corantes sintéticos (HENRY, 1996).

Entretanto, os corantes naturais como as betalaínas, o carmim o  $\beta$ -caroteno, a norbixina e a curcumina, por exemplo, muito utilizados pela indústria alimentícia, possuem cores intensas e seu uso em alimentos, geralmente, resulta em doses ínfimas para obtenção do efeito desejado. Henry (1996) faz uma comparação interessante entre as absorvidades de alguns corantes naturais com os corantes azo que possuem matizes bem similares. O autor verificou que alguns corantes naturais, em condições idênticas de análise, são consideravelmente mais intensos que os corantes sintéticos em questão.

Com a necessidade de substituir vários corantes artificiais, a indústria de alimentos recorreu a uma série de pigmentos naturais, que vão desde partes comestíveis de animais e insetos, sucos vegetais e até substâncias extraídas e purificadas. Uma enorme variedade de novas fontes tem sido descoberta e pesquisada na natureza. Destacando-se a grande biodiversidade das matas tropicais, o Brasil, com a Mata Atlântica e a Amazônia, consiste em um país com grande potencial para pesquisas nesse campo.

No entanto, o grande problema da indústria alimentícia é encontrar uma fonte natural de corante azul. Por se constituir de uma cor primária, conjuntamente com o amarelo e o vermelho permite a produção de cor em todas as tonalidades requeridas pelas indústrias de alimentos. Na natureza somente as antocianinas apresentam essa tonalidade em determinadas substâncias, porém, não são estáveis. Por isso o uso de corantes sintéticos se faz necessário em produtos onde se deseja a cor azul ou necessite desta cor pra dar origem a outras tonalidades, como o roxo e o violeta. Isso gera outro problema, pois na maioria das vezes esse corante sintético é utilizado em confeitos para crianças, agravando

as possibilidades de efeitos indesejáveis, como alergia e intoxicação. Essa dificuldade leva a necessidade de pesquisas em cima de possíveis fontes para a produção de um corante azul natural, que tendem a ser menos tóxicos, mas que também demandam pesquisas quanto a sua segurança alimentar.

Uma dessas possíveis fontes que vem sendo pesquisada é o *Streptomyces coelicolor*, um tipo de actinomiceto, que é capaz de sintetizar pigmentos azuis. Além do pigmento azul, observou-se a presença de outro composto, denominado “actinorhodim”, um antibiótico capaz de inibir bactérias gram positivas como *Staphylococcus aureus* (ZHANG et al., 2006). O pigmento extraído deste microorganismo foi classificado como substância não tóxica ( $LD_{50} > 15.000 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). As boas características deste pigmento são um indicativo de seu potencial como corante para ser empregado na indústria de processamento de alimentos, notadamente em bebidas e bolos. Entretanto, por limitações culturais, alguns povos podem se mostrar não favoráveis ao uso de um corante proveniente de microorganismo. Além disso, o fato do microorganismo produzir um antibiótico pode gerar discussões quanto a sua segurança.

Uma alternativa possível é a busca de matéria-prima vegetal capaz de fornecer um corante azul. Apesar de haver relatos em literatura do uso de jenipapo como fonte de corante azul, esse nunca foi explorado em relação a sua viabilidade técnica. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo a avaliação da potencialidade do fruto do jenipapo como fonte de corante azul natural, objetivando torná-lo tecnicamente viável, bem como identificar o solvente adequado para a extração dos pigmentos do jenipapo, avaliando o efeito do pH e da temperatura na produção do corante, e estudar a estabilidade dos pigmentos obtidos por diferentes solventes.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. COR NO ALIMENTO

A primeira característica observada em um alimento é a cor, e essa pré-determina expectativas de sabor e qualidade. A cor é um importante fator na escolha de um alimento. Quando cor e sabor são corretamente correlacionados, isto é, a cor é característica do produto, o sabor é imediatamente identificado na maioria dos casos (HENRY, 1996). A memória leva, por exemplo, à rejeição de alimentos que fogem do padrão como morangos azuis, carne amarela e beterraba verde.

Desde sempre, corantes naturais, especiarias, ervas e vegetais têm feito parte da dieta diária do homem. Eles vêm sendo consumidos por gerações, auxiliando a identificação de alimentos e a avaliação do seu paladar. A cor define o valor estético do alimento, determina a expectativa do consumidor quanto ao sabor e textura e regula o apetite (STINTZING & CARLE, 2004). Para a indústria de alimentos a manutenção da aparência do alimento o mais próxima do natural é o maior desafio, admitindo-se, que a cor pode ser alterada pela ação da luz, temperatura, oxigênio, íons metálicos e enzimas endógenas. Além disso, a cor de frutas e vegetais varia com as estações e condições de cultivo, colheita e tratamentos pós-colheita. Consequentemente há uma necessidade tecnológica de colorir o alimento com o objetivo de restaurar a cor natural do mesmo, e compensar as variações naturais do produto e as alterações que ocorrem durante a produção industrial (STINTZING & CARLE, 2004).

Não há dúvidas de que é tecnologicamente viável obter corantes naturais de plantas e microrganismos, uma vez que há na natureza uma enorme quantidade de pigmentos que não foram suficientemente estudados. Porém, deve-se avaliar a viabilidade para a sua produção industrial. Assim, o cultivo deve ser em larga escala, de fácil colheita e estocagem, e a extração tem que ser viável economicamente.

A cultura de tecidos tem sido colocada como uma boa alternativa para os cultivos tradicionais. Porém essa técnica tem a desvantagem de não ser interessante economicamente para a produção de pigmentos porque a taxa de crescimento celular da planta é lenta. Em contrapartida, a produção microbiana tem a vantagem de produzir

grandes rendimentos, mas pode não ser aceita em sociedades não habituadas com seu consumo em alimentos.

A grande variedade de cores nas plantas é devido à combinação de um número relativamente pequeno de pigmentos. Na alimentação humana eles são consumidos em grande quantidade proveniente do consumo direto das plantas e vegetais, mas são pouco significativos quando vindos de adição em alimentos.

Várias espécies podem ser consideradas plantas corantes, como as especiarias (urucum e cúrcuma), as hortaliças (beterraba e espinafre), plantas ornamentais (“marygold”) frutíferas (uva e jenipapo), plantas fibrosas (vinagreira), dentre outras (KATO, 1998).

Como exemplo das possibilidades que grandes ecossistemas apresentam em termos de biodiversidade, podemos citar algumas plantas da região amazônica que são utilizadas para a obtenção de corantes ou que estão em estudo para avaliar seu potencial de uso e as características de seus corantes. Dentre essas estão o urucum, a cúrcuma, o dendê, o cacau, o açaí, o cará-roxo e o jenipapo. Há ainda algumas que necessitam estudos profundos, tais como: anil verdadeiro, bartimão, baruti, carajuru, cumatê, guaraná, mucajá, pau terra, pequi, pupunha, tajuba, tua, tucumã, umari e vinagreira (KATO, 1998).

Um aspecto importante a ser avaliado, e que deve evoluir com o uso dos corantes naturais, são as embalagens. Há uma interação muito grande dos produtos com as embalagens. O uso de embalagens ativas com barreiras a condições deletérias aos corantes naturais torna o emprego desses mais viável, devido ao fato dos corantes naturais serem na sua maioria degradáveis e sensíveis à luz, calor, oxigênio e a microrganismos (FURTADO, 2006). O aprimoramento nas embalagens complementa uma tendência de uso dos corantes naturais em produtos de maior valor agregado, voltados para um público com poder aquisitivo superior. Nesse caso, o consumo atinge praticamente toda a gama de corantes naturais, da bixina do urucum, ao carmim de cochonilha, de coloração vermelha (FURTADO, 2006).

## 2.2. A COR E SUA AVALIAÇÃO INSTRUMENTAL

Os objetos são coloridos porque absorvem mais certos comprimentos de onda da radiação visível, enquanto outros são transmitidos ou refletidos. Um objeto azul, por exemplo, apresenta tal cor porque, quando a luz branca composta do vermelho, laranja, amarelo, verde, azul e violeta em definidas proporções, incide sobre o mesmo, a cor azul é muito pouco ou nada absorvida, enquanto que as outras cores são essencialmente retidas, ocorrendo assim, um distúrbio no equilíbrio de cores, e a solução adquire a coloração azul. Quando ocorre a absorção de certo comprimento de onda de forma mais pronunciada que em outros temos o que o observador humano reconhece como cor, fisicamente como o comprimento de onda dominante ou fisiologicamente como tonalidade (PONTES, 2004).

Das cores que compõe a cor branca, algumas são ditas primárias enquanto outras são denominadas complementares. Cores primárias (vermelho, azul e amarelo) são aquelas que, por combinação adequada, rendem as demais cores do espectro do visível. Assim, a combinação do azul com o amarelo produz o verde, do vermelho com o azul produz o violeta, etc. Cores complementares por sua vez, são aquelas que, por mistura binária, originam a cor branca. São cores complementares: o vermelho com o verde, o azul com o laranja e o amarelo com o violeta. Todas as cores existentes no espectro podem ser visualizadas pela adição e subtração de diferentes quantidades das cores amarela, azul, vermelha, verde, laranja e violeta.

Quando se adiciona branco a qualquer uma das cores primárias, elas recebem mais luz. Já a adição do preto subtrai sua luz. A combinação das cores primárias com secundárias em partes iguais dá origem à cor cinza, que funciona como ponto médio de todas as outras cores (MASCARENHAS, 1998).

A percepção das cores vai muito além da estrutura do pigmento, do comprimento de onda e da subtração e adição dos raios luminosos. A percepção de cor pelos olhos depende bem mais de fatores intrínsecos ao ser humano como a fisiologia do olho e do córtex cerebral e a psicologia humana.

A visão é um processo complexo que envolve a passagem de luz pelas diversas partes do olho, como a córnea, humor aquoso, pupila e humor vítreo, até que chega à retina e às células fotossensíveis, gerando um processo que contribui para a sensação de visão.

Por isso, algumas vezes a cor não é considerada uma propriedade intrínseca do objeto, nem da luz; ela corresponde ao efeito que um estímulo provoca na retina e no nervo ótico, quando chega ao cérebro.

Todas as cores existentes no espectro podem ser criadas por subtração ou adição de diferentes quantidades das cores amarela, azul, vermelha, verde, laranja e violeta, em graus diferentes de intensidade. Já as cores dos pigmentos, presentes em flores, árvores, frutos, etc, possuem sua estrutura química correspondente. Pode-se concluir que cada pigmento possui ressonância própria e um determinado comprimento de onda correspondente a sua cor, que são obtidos por subtração ou absorção de certas partes do espectro (MASCARENHAS, 1998).

A principal diferença entre um corpo azul, iluminado por luz branca, e uma fonte emissora de azul é que o corpo azul está absorvendo o verde e o vermelho refletindo apenas azul enquanto que a fonte emissora de luz azul emite efetivamente apenas azul. Se o objeto fosse iluminado por essa luz ele continuaria a parecer azul. Mas, se pelo contrário, ele fosse iluminado por uma luz amarela (luz Vermelha + Verde) o corpo pareceria negro.

A colorimetria tricromática se baseia na suposição de que existe na visão um sistema trireceptor. Não importa qual a composição espectral da radiação que chega na retina, sua resposta será analisada segundo três parâmetros (LOZANO, 1978). Isso implica num processo de integração. Quando o observador vê uma cor, ele pode discriminar sua claridade, tonalidade e saturação, não podendo dizer nada sobre sua composição espectral.

A tonalidade é uma grandeza que caracteriza a qualidade da cor, como vermelho, verde e azul dentre outros, permitindo que elas sejam diferenciadas e que está associada a certo comprimento de onda do espectro visível. A saturação descreve a intensidade ou quantidade de uma tonalidade, indicando a proporção em que ela está misturada com o preto, branco ou cinza. Também chamada de pureza ou intensidade da cor, é a qualidade que nos permite distinguir cores fortes de fracas. Luminosidade, por sua vez, é a qualidade que caracteriza o grau de claridade da cor e está associada à sensação produzida por uma superfície com essa cor, indicando se as cores são claras ou escuras. A luminosidade vai do preto ao branco (PONTES, 2004; RAMOS & GOMIDE, 2007).

O princípio fundamental da colorimetria foi enunciado por Newton em 1672, que afirmou que qualquer cor pode ser igualada pela soma das três cores primárias

convenientemente escolhidas. Como existem infinitas nuances das cores primárias, é necessário especificar quais são em cada caso. Por isso temos os estímulos de referência (LOZANO, 1978). Dessa forma, para que se tenha uma representação numérica satisfatória da cor, a curva espectrofotométrica deve ser reduzida a três números denominados valores triestímulos ou valores cromáticos-padrão. O Comitê Internacional em Iluminação (CIE) recomenda o uso do sistema-padrão fundamentado em um “observador-padrão”, que simula o olho humano e consiste em três filtros primários de cor. A curva espectrofotométrica é especificada em termos de X, Y e Z, em que X está relacionado com a cor vermelha, Y com a Luminosidade e cor verde e Z com a cor azul.

Os valores de X, Y e Z foram calculados a partir das curvas-padrão observadas do espectro visível. Várias escalas de cores foram desenvolvidas tendo como base o sistema CIE XYZ e todas criadas para simular a resposta humana aos estímulos das cores. Em cada sistema, a cor é alocada em um sólido de cor tridimensional, onde é quantificada. Deve-se ressaltar que todas as escalas usualmente empregadas representam um sólido tridimensional de cor e são matematicamente interconvertíveis (PONTES, 2004).

Hunter desenvolveu um colorímetro fotoelétrico triestímulo que ganhou bastante aceitação na indústria de alimentos. O equipamento consiste basicamente de três circuitos separados, filtros cuidadosamente selecionados e fotocélulas que fornecem estreitas aproximações de X, Y e Z, que são funções do sistema CIE. A coordenada *L* (luminosidade) de Hunter está relacionada à grandeza Y do sistema CIE (Equação 1). A coordenada *a* é mensurável em termos de intensidade de vermelho e verde (Equação 2), e a coordenada *b* está relacionada com a intensidade de amarelo e azul (Equação 3). A Figura 1 mostra um sólido de Hunter, onde a coordenada *a* é função de X e Y, e a coordenada *b*, de Z e Y.

$$L = 100x\sqrt{Y/Y_n} \quad (1)$$

$$a = K_a \frac{X/X_n - Y/Y_n}{\sqrt{Y/Y_n}} \quad (2)$$

$$b = K_b \frac{Y/Y_n - Z/Z_n}{\sqrt{Y/Y_n}} \quad (3)$$

Em que:

X, Y, Z são os valores triestímulos;

X<sub>n</sub>, Y<sub>n</sub>, Z<sub>n</sub> são valores triestímulos de padrões de iluminantes;

K<sub>a</sub> e K<sub>b</sub> são os coeficientes de cromaticidade para o iluminante usado;



Figura 1 – Sólido de Hunter.

De acordo com PONTES (2004) juntas, as coordenadas  $a$  e  $b$  podem gerar parâmetros relacionados à tonalidade ( $h$ ) (Equação 4) e saturação ou croma ( $c$ ) (Equação 5). As equações a seguir mostram as relações entre tais grandezas:

$$c = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (4)$$

$$h^\circ = \arctan(b/a) \quad (5)$$

Em que:

$c$  é o índice de saturação da cor. Corresponde ao comprimento da projeção da localização da cor no plano ( $a, b$ ), ou seja, o comprimento do vetor.

$h$  é o ângulo de tonalidade da cor. Utilizado para estimar a posição de uma amostra no sólido de cor.

Por convenção, o ângulo  $0^\circ$  é fixado no eixo horizontal com  $+a$  (vermelho), aumentando no sentido anti-horário. O sólido de cor é dividido em quadrantes, e a interpretação das diferenças de tonalidade, no sólido como um todo, pode ser feita da seguinte forma: vermelho ( $330^\circ$  a  $25^\circ$ ), laranja ( $25^\circ$  a  $70^\circ$ ), amarelo ( $70^\circ$  a  $100^\circ$ ), verde ( $100^\circ$  a  $200^\circ$ ), azul ( $200^\circ$  a  $295^\circ$ ) e violeta ( $295^\circ$  a  $330^\circ$ ) (RAMOS & GOMIDE, 2007).

Entretanto, o valor obtido a partir da equação do ângulo de tonalidade encontra-se no intervalo de  $-90 < h < 90$ , que representa posições no primeiro (valores positivos) e quarto quadrantes (valores negativos). Para obter as posições nos demais quadrantes é necessária uma observação conjunta com os valores de  $a$  e  $b$ . Quando  $a$  é negativo é necessário somar 180 ao valor de  $h$ . Da mesma forma, quando a amostra se encontra no quarto quadrante ( $a$  positivo e  $b$  negativo), é necessário somar 360 ao valor de  $h$  (RAMOS & GOMIDE, 2007).

Como descrito, os instrumentos foram desenvolvidos para reproduzir a resposta das cores observadas pelo olho humano. São os sistemas de cores usados para descrevê-las em termos matemáticos, numa linguagem sistematizada e aceita universalmente, que tem o objetivo de uniformizar esse atributo, tornando mais objetiva sua aplicação industrial.

### 2.3. JENIPAPO

O jenipapo é o fruto do jenipapeiro, uma árvore da família das *Rubiáceas*, pertencente à mesma família do café, e chamado cientificamente de *Genipa americana*. É uma espécie nativa bastante comum em grande parte do Brasil, em várias formações florestais situadas em várzeas úmidas ou encharcadas (LORENZI, 1998). As variedades mais comuns de jenipapeiro são: jenipapeiro-pequeno, médio e grande, jenipapeiro com caroço, jenipapeiro sem caroço, jenipapeiro sempreflorens (produz frutos o ano todo), jenipapeiro macho e jenipapeiro fêmea (XAVIER & XAVIER, 1976; EPSTEIN, 2001). A árvore floresce durante os meses de outubro a dezembro. Os frutos amadurecem nos meses de novembro a dezembro, quase simultaneamente com a nova florada (LORENZI, 1998).

Frutífera indígena, o jenipapeiro tem importância ecológica para o repovoamento de animais da fauna brasileira, sendo muito útil para plantio em áreas brejosas degradadas, crescendo com mais facilidade em regiões de clima quente, como os Estados do Nordeste e

do Norte do Brasil (LORENZI, 1998; EPSTEIN, 2001). Devido às características adaptativas ao ambiente ciliar, combinadas com o rápido crescimento e abundante produção de sementes, a *G. americana* tem sido muito recomendada e utilizada na recuperação de áreas degradadas (SEBBENN, 1997).

Na cultura popular o jenipapo tem indicações medicinais e, em alguns lugares, é considerado afrodisíaco. Sua polpa é usada contra icterícia, afecções do estômago, baço e fígado. Há referências de que a goma extraída do tronco do jenipapeiro tem efeito antidiarréico e propriedades antigonorréicas. O chá de suas raízes é utilizado como purgativo; as sementes esmagadas como vomitório; o chá das folhas como antidiarréico; o fruto verde ralado é para asmáticos; as brotações são desobstruinte; e o suco do fruto maduro é tônico para estômago e diurético (SANDRI, 1998; EPSTEIN, 2001).

Algumas dessas aplicações medicinais são reportadas e pesquisadas também cientificamente. Gottlieb & Mors (1980) em um levantamento sobre o uso potencial de extratos de árvores brasileiras cita alguns iridóides presentes em *G. americana* como compostos ativos. Os ácidos genipico e genipinico foram considerados antimicrobianos enquanto geniposídeos e ácido geniposídico apresentaram atividade purgativa (Figura 2). Os iridóides são substâncias monoterpnoídicas formadas em plantas por uma ciclização alternativa do pirofosfato de geranila. A estrutura química dessas substâncias é baseada no esqueleto ciclopentano-[C]-pirano, iridóides carbocíclicos, e a clivagem oxidativa da ligação 7,8 do anel ciclopentano fornece os chamados secoiridóides. Em quimiosistemática, os iridóides representam um marcador importante em classificação vegetal, filogenia e evolução (SAMPAIO-SANTOS & KAPLAN, 2001).



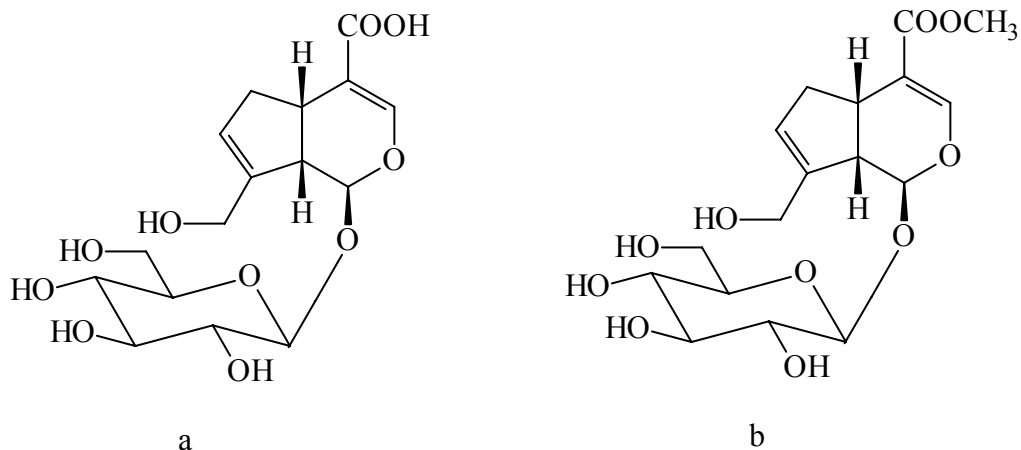


Figura 2 – Estrutura química do ácido geniposídico (A) e do geniposídeo (B).

Ono et al. (2005) identificaram quatro novos iridóides glicosídicos de jenipapo, os quais foram chamados de genamesídeos A-D, além dos já conhecidos ácido geniposídico, geniposídeo, gardenosídeos e genipina-gentiobiosídeo. Na avaliação da atividade anti-promotora de tumores dos iridóides de jenipapo, todos apresentaram essa atividade. O geniposídeo foi menos ativo do que o ácido geniposídico, entretanto sua aglicona genipina teve efeito notável. A genipina (Figura 3) além de ótima atividade também teve toxicidade insignificante (UEDA & IWAHASHI, 1991). Esse composto também está relacionado com a formação do corante azul. Segundo Butler et al. (2003) o geniposídeo, que dá origem a genipina via hidrólise enzimática com  $\beta$ -glicosidases, representa 4 a 6% do fruto seco.

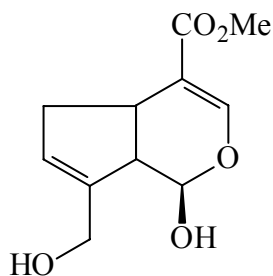


Figura 3 – Estrutura química da genipina.

Na alimentação do homem, o fruto é comestível ao natural e empregado no preparo de compota, doce cristalizado, refresco, suco, polpa, xarope, licor, vinho, álcool, vinagre e aguardente. Já na indústria de madeira, a madeira de cor branca (marfim) é mole e elástica,

flexível, racha com facilidade, recebe bem o verniz e tem longa duração. É empregada em construção naval e em construção civil, em marcenaria de luxo, em tanoaria, em fundições (moldagem de peças) e em xilogravura, entre outros (EPSTEIN, 2001).

Outra aplicação é na alimentação de animais, onde folhas e frutos são cortados em pedaços pequenos para alimentar bovinos, caprinos e suínos, e o curtimento de couros, pois a casca do caule (cor cinza-claro) e o fruto verde são ricos em tanino (SANDRI, 1998; EPSTEIN, 2001).

### 2.3.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO

O jenipapo, como é conhecido na maior parte do território brasileiro, também é chamado de jenipá ou jenipapinho no Pará, huito na fronteira entre Brasil e Peru, genipa na Guiana Francesa, guayatil no Panamá, nandipáguazú na Argentina e jagua em outros países de língua espanhola (SANDRI, 1998).

O jenipapo é uma baga ovóide com 5-12 cm de diâmetro, carnuda e comestível. Quando verde é adstringente. Contém boa quantidade de açúcar e acidez pronunciada, variando com a espécie e dependendo do clima e solo. Sua casca é mole e rugosa, de cor amarelo-pardacenta, castanho-escura ou esverdeada. A polpa é aromática, vinosa, mole e envolve numerosas sementes de consistência dura e fibrosa (XAVIER & XAVIER, 1976; SANDRI, 1998; EPSTEIN, 2001).

Os frutos do jenipapeiro são comestíveis e muito apreciados. Quando ainda verde fornecem suco de cor azulada que é utilizado como corante. Deve ser colhido no ponto certo de maturação para que possa ser aproveitado. Após a maturação fornece polpa comestível aproveitada ao natural e na forma de doces. O suco fermentado transforma-se em vinho e licor (LORENZI, 1998).

O jenipapo é caracterizado na literatura por sabor ácido e aromas frutais. Borges & Rezende (2000) detectaram como voláteis majoritários os ácidos octanóico (34,1%), 2-metilbutírico (9,1 %), hexanóico (18,2%) e os ésteres 2-metil- 2-(E)-butenoato de metila (4,1%), octanoato de etila (3,2%) e 2-propilfurano (2,5%), sendo os ácidos butírico, 2-metilbutírico e hexanóico responsáveis pelas notas pungente e ácida, e a característica frutal foi atribuída à presença dos ésteres 2- e 3-metilbutirato de etila.

Alves (2004) encontrou resultados parecidos com os de Borges & Rezende (2000), sendo as amostras caracterizadas pelo elevado número de ésteres e álcoois. Além disso, foram identificados pela primeira vez em jenipapo vários álcoois, como etanol, 2-metilpropanol, 2-pentanol, butanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 2-heptanol, hexanol, 2-butoxi-etanol, 2-nonanol e octanol, assim como alguns compostos carbonílicos como 2-pentanona, 4-metil-2-pentanona, acetofenona, além dos ésteres 2-metilbutanoato de metila, butanoato de metila, 2-metilenobutanoato de metila, (Z)-3-hexenoato de metila, (Z)-3-octenoato de metila, benzoato de metila, 4-decenoato de etila e salicilato de metila, uma lactona (capralactona) e um hidrocarboneto (ciclooctatetreno). O mesmo trabalho determinou 27 compostos importantes para o aroma característico de jenipapo. O ácido hexanóico, 2-metilbutírico, uma mistura de 2- e 3-metilbutanol e um composto não identificado foram responsáveis pelo aroma ácido, de fermentado e queijo e também por notas desagradáveis como chulé. Os compostos 2-metilbutanoato de metila, linalol, octanoato de metila, e um outro composto não identificado foram responsáveis pelas notas “frutal” e adocicada da fruta (ALVES, 2004).

O fruto apresenta quantidade considerável de polpa, sendo a relação de 12,05% de casca, 47,81% de polpa e 40,61% de caroço (CRUZ & PEREIRA, 1985). A polpa do jenipapo apresenta baixa acidez, alto conteúdo de umidade, baixo percentual de proteína e lipídio, alto conteúdo de açúcares, regular teor de ferro, boa taxa de cálcio e fósforo, alto conteúdo de taninos, e apenas traços de vitamina C e pectina (FIGUEIREDO et al., 1986a).

A Tabela 1 apresenta a composição dos frutos de jenipapo em diferentes estágios de maturação.

**Tabela 1:** Composição química dos frutos de jenipapo verde, “de vez” e maduro

Determinações	Estágio de maturação		
	Verde	“De vez”	Maduro
pH	4,2	4,00	4,00
Acidez titulável total (% ácido cítrico)	0,93	0,98	0,94
Sólidos solúveis (°Brix)	14,00	20,00	20,00
Vitamina C (mg.100g <sup>-1</sup> )	Traços	Traços	Traços
Taninos (mg.100g <sup>-1</sup> )	609,55	280,00	254,55
Umidade (%)	74,67	74,14	74,81
Cinza (%)	1,02	0,86	0,85
Proteína (% N x 6,25)	0,74	0,62	0,68
Lipídios (%)	0,27	0,32	0,35
Fibra (%)	1,8	2,03	2,03
Glicídios redutores (%)	8,46	8,00	11,39
Glicídios não redutores (%)	5,27	7,23	4,33
Amido (%)	6,44	5,62	4,62
Pectina (mg.100g <sup>-1</sup> )	Traços	Traços	Traços
Cálcio (mg Ca.100g <sup>-1</sup> )	46,33	33,40	45,82
Ferro (mg Fe.100g <sup>-1</sup> )	0,79	0,73	0,80
Fósforo (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .100g <sup>-1</sup> )	47,70	41,40	33,50

Fonte: FIGUEIREDO et al. 1986 (a)

Figueiredo et al. (1986a) avaliaram as características físicas e químicas do jenipapo em diversos estágios de maturação. O teor de proteínas encontrado na polpa do fruto verde foi superior aos encontrados para o fruto “de vez” e maduro, provavelmente devido às diferenças no grau de reorganização de sistemas celulares no período climatérico. No teor de amido houve uma diminuição à medida que o fruto amadureceu, provavelmente porque muitos carboidratos solúveis, ao lado do amido, são completamente metabolizados com o amadurecimento do fruto.

A polpa do fruto verde apresentou maior quantidade de cálcio e fósforo, enquanto a do maduro mostrou-se superior em ferro. O teor de tanino diminui à proporção que o fruto amadurece, pois durante o amadurecimento do fruto vários taninos monoméricos são

sintetizados, os quais se polimerizam durante o curso de seu desenvolvimento (FIGUEIREDO et al., 1986a). O fruto do jenipapo absorve água facilmente e sua durabilidade quando maduro é de no máximo 2 dias (CRUZ & PEREIRA, 1985).

Quanto à composição de ácidos graxos na fração lipídica da polpa do fruto, tem-se a seguinte concentração: palmítico 37,20%; oléico 25,65%; esteárico 5,36 %; mirístico 5,26%; láurico e cáprico ambos com 2,25%. Com base nestes valores, dos ácidos graxos identificados, verifica-se uma predominância dos ácidos graxos saturados (52,32%) sobre os ácidos graxos insaturados (25,65%). Alguns ácidos graxos não foram identificados no trabalho de Figueiredo et al. (1991). A farinha da polpa desengordurada de jenipapo apresenta valores elevados de ácido aspártico, ácido glutâmico e leucina. Também é rica em argina, aminoácido essencial para a engorda de frangos (CRUZ & PEREIRA, 1985).

Com relação à semente, a análise cromatográfica revelou 20,03% de ácidos graxos saturados, palmítico e esteárico, e 79,97% de insaturados, oléico e linoléico, sendo esse último predominante (FIGUEIREDO et al., 1991). Convém destacar o elevado percentual de ácido linoléico (60,49%) presente no óleo da semente, uma vez que este se apresenta superior ao encontrado em outros óleos vegetais considerados ricos em relação ao referido ácido, como por exemplo, milho (55,00%), soja (53,00%), semente de algodão (51,50%) e amendoim (26,00%) (FIGUEIREDO et al., 1991).

A exemplo da maioria das frutas tropicais, o jenipapo é altamente perecível, deteriorando-se em poucos dias, fato que dificulta a sua comercialização, aumentando as perdas. A industrialização surge, portanto, como alternativa para reduzir as perdas, principalmente no pico da safra quando alcançam menores preços pelo excesso de oferta e pela concorrência de outras frutas. O trabalho de Andrade et al. (2003) estudou a viabilidade do uso de desidratação osmótica do jenipapo como um processo capaz de contribuir tanto na conservação do produto, como nas características organolépticas do mesmo. O estudo demonstrou um efeito benéfico do processamento sobre a conservação, no que diz respeito à contagem de bolores e leveduras. Nesse trabalho, o uso de açúcar como agente osmótico além de aumentar a aceitação do produto pelos consumidores, também aumentou o valor energético do fruto.

Silva et al. (1998) observaram que os frutos de jenipapo perdem grande quantidade de água durante o armazenamento, tanto em condições ambientais quanto sob refrigeração,

concomitantemente com o aumento no teor de sólidos solúveis totais. Porém, a refrigeração se mostrou mais eficaz na manutenção da vitamina C em níveis comerciais, bem como na manutenção da integridade física dos frutos durante o armazenamento, refletindo na firmeza da polpa. De modo geral, a refrigeração a 10°C retarda acentuadamente as alterações físico-químicas características do amadurecimento.

Numa avaliação de diferentes tipos de métodos de conservação de néctares de jenipapo, empregando baixa temperatura (congelamento), alta temperatura (100°C por 15 minutos) e aditivos químicos (benzoato de sódio e metabissulfito de sódio), a conservação a baixa temperatura apresentou melhor estabilidade durante 150 dias de estocagem. Os néctares que foram preservados pelo calor e por aditivos químicos apresentaram escurecimento gradual quando comparados com os mesmos produtos conservados por congelamento. Com base nos resultados das análises microbiológicas, todos os métodos aplicados foram eficientes. O néctar conservado por congelamento revelou maior grau de aceitabilidade por parte da equipe de provadores, muito embora, estatisticamente ao nível de 1% de significância, não tenha sido detectada diferença significativa entre os valores atribuídos à cor e sabor dos diferentes tipos de tratamentos dados aos néctares (FIGUEIREDO et al., 1986b).

### 2.3.2. EXTRAÇÃO DE CORANTE DE JENIPAPO

Desde épocas remotas os indígenas utilizam o suco do jenipapo obtido após mastigação do fruto em pinturas corporais, de utensílios e no tingimento de tecidos, imprimindo-lhes coloração negra (PENALBER et al., 1996). Penalber et al. (1996), determinaram que o fruto de jenipapo ainda verde produz por oxidação um corante azul escuro solúvel em água e etanol. Segundo Nazaré (1998), os frutos maduros submetidos à extração com vários solventes fornecem um extrato amarelo cristalino, enquanto que a extração com soluções diluídas de hidróxido de sódio resulta em um extrato de coloração azul, cujo pigmento principal é um geniposídeo. Esse geniposídeo é semelhante à genipina, corante natural usado em alimentos em países da Ásia. Os frutos de *Gardênia jasminóides* fornecem extratos amarelos (geniposídeos), os quais quando submetidos à hidrólise em

presença de beta-glucosidase, reagem posteriormente com aminoácidos, dando formação ao pigmento azul (NAZARÉ, 1998).

Segundo Penalber et al. (1996), o suco apenas retirado do fruto apresenta cor citrina, que passa pouco a pouco ao verde, ao azul-violáceo, ao azul e, finalmente, ao azul-escuro, atingindo o negro-verdoengo por envelhecimento. As cuias utilizadas pelos indígenas são tingidas de um negro profundo, retirado do suco de jenipapo, que em contato com urina durante vários dias, fermenta e fornece, por desdobramento da uréia, o carbonato de amônio, facilitando a transformação da matéria corante e imprimindo-lhe maior intensidade no colorido.

Penalber et al. (1996) fizeram uma avaliação da extração de corante de jenipapo e verificaram que água e etanol extraíram corante de coloração azul intensa, que passou a negro, principalmente em temperaturas superiores a 80°C. Não houve extração com hexano, o que levou a conclusão de que o corante é polar. O trabalho também concluiu que há variações quanto ao tamanho dos frutos e variações de cor em função do pH, e que o extrato deve ser mantido protegido da ação do ar visando aumentar a estabilidade do mesmo (PENALBER et al., 1996).

A importância dos compostos nitrogenados é melhor descrita por Touyama e colaboradores (1994a) que descreveram a reação espontânea de aminas primárias, incluindo proteínas, com genipina, um dos iridóides constituintes do jenipapo, formando um pigmento azul. Essa reação não ocorre com aminas secundárias e terciárias, e o oxigênio é indispensável para a formação de cor azul.

A reação da genipina com metilamina, uma amina primária simples, em meio hidroalcolico na presença de oxigênio atmosférico gera uma mistura de polímeros de alto peso molecular, com coloração azul. Quando a mesma reação foi conduzida sob atmosfera de nitrogênio, a mistura da reação primeiro ficou amarela e depois vermelho-amarronzada, chegando finalmente a azul na presença de oxigênio no meio de reação (TOUYAMA et al., 1994a). Nessas condições obtém-se um pigmento azul constituído por uma mistura de polímeros de alto peso molecular que é solúvel em água, metanol e etanol, mas insolúvel em outros solventes orgânicos como o clorofórmio. Essas observações quanto a solubilidade corroboram as observações feitas por Penalber et al. (1996). Os compostos amarelos foram considerados precursores dos compostos vermelho-amarronzados, e ambos

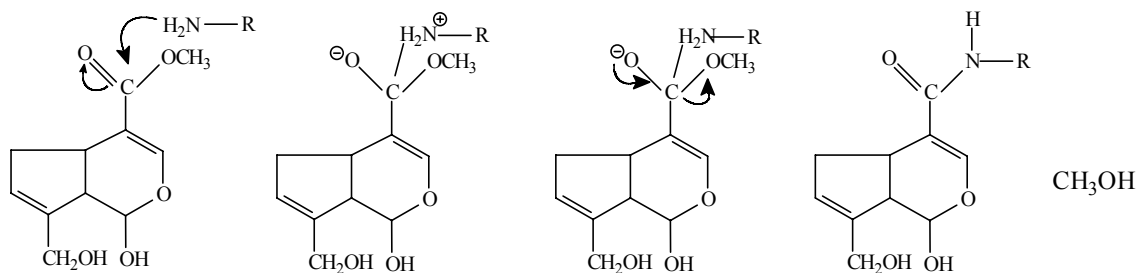
se mostraram como sendo intermediários da reação de formação dos pigmentos azuis (TOUYAMA et al., 1994b). A formação desses pigmentos intermediários ocorre sob atmosfera inerte e eles apresentam uma estrutura básica de 2-metil-4-carbometoxi-2-piridina como esqueleto. A substância amarela isolada se mostrou altamente instável, tornando-se facilmente vermelha durante os processos de isolamento (TOUYAMA et al., 1994b).

Considerando a formação do pigmento azul a partir de produtos intermediários com a passagem de oxigênio pela solução de reação e a partir de genipina e metilamina em solução hidroalcoólica, mesmo sob exclusão de oxigênio, sob irradiação ultra-violeta, o pigmento azul deve ser formado através de polimerização induzida por um radical de oxigênio e dehidrogenação dos pigmentos intermediários (TOUYAMA et al., 1994a).

Butler et al. (2003) descrevem a formação de reações cruzadas entre genipina e biopolímeros contendo grupos de amina primárias em duas etapas. Primeiramente, há uma reação de substituição nucleofílica  $S_N2$ , que envolve a substituição de um grupamento éster na molécula de genipina por uma amida secundária. O nucleófilo nesse caso é um grupo de amina primária. A segunda reação é a substituição nucleofílica do grupamento éster, que ocorre tardiamente na reação. Na segunda parte, a reação começa com um ataque nucleofílico inicial do carbono C3 da genipina, pelo grupo amina primário, formando um grupo aldeído intermediário. A abertura do anel dihidropirano é seguida pelo ataque da amina secundária formada na primeira etapa, ao grupo aldeído formado. Além dessas reações cruzadas, há indícios de que a formação de pigmentos azuis envolve outras reações mais complexas. A figura a seguir apresenta o esquema de reação da formação de reações cruzadas envolvendo a genipina (Figura 4).



Esquema da reação 1



Esquema da reação 2

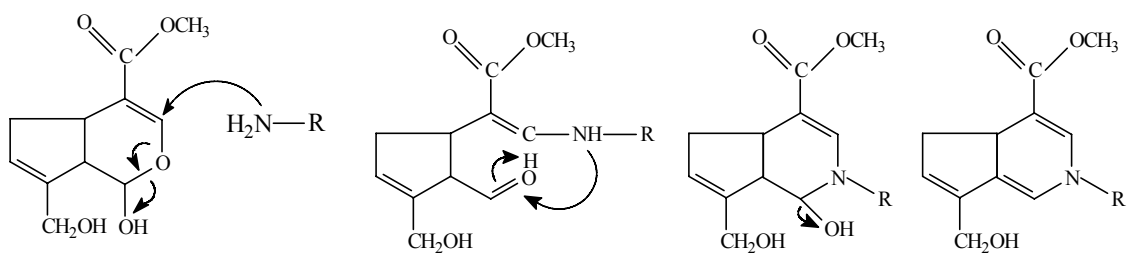


Figura 4 – Reações cruzadas envolvendo genipina (Adaptado de BUTLER et al. 2003).

# CAPÍTULO 1 – EFEITO DO pH, TEMPERATURA E SOLVENTES SOBRE A EXTRAÇÃO DE CORANTE DE JENIPAPO

## 1. INTRODUÇÃO

O comportamento humano é influenciado pela aparência e a cor dos alimentos é um considerável atributo de qualidade, não só servindo de base para a identificação e a aceitação de grande variedade de produtos, mas também influenciando negativa ou positivamente na percepção dos demais atributos sensoriais.

Os corantes naturais são um grupo variado de compostos, sendo difícil fazer comentários gerais sobre sua natureza e desempenho. Apesar da grande variedade de cores nas plantas, essa é devido à combinação de um número relativamente pequeno de pigmentos. Na alimentação humana eles são consumidos em grande quantidade proveniente do consumo direto das plantas e vegetais, mas são pouco significativos quando vindos de adição em alimentos processados.

Dentre as desvantagens dos corantes naturais estão a sua baixa estabilidade apresentada nos alimentos quando comparados com os sintetizados. São sensíveis ao calor, pH e luz, mas para a maioria dos pigmentos e em determinadas condições é possível minimizar esses efeitos. O conhecimento dos mecanismos existentes nas plantas que naturalmente protegem a degradação das moléculas é a chave para se desenvolver métodos para a manutenção da estabilidade dos pigmentos.

A busca por fontes alternativas leva a identificação de plantas pouco conhecidas na biodiversidade brasileira e ao desenvolvimento de novas tecnologias de obtenção e processamento. A estabilização depende da molécula a ser utilizada e das características físico-químicas do alimento em que vai ser adicionado. Algumas descobertas recentes ainda não são viáveis economicamente.

Na busca por novas fontes de corantes naturais, um aspecto importante é o estudo da toxicidade destes compostos o que requer grandes investimentos em pesquisas. Mesmo assim, acredita-se que nos próximos anos haverá uma expansão na lista dos corantes naturais permitidos para uso em alimentos processados. Para o emprego efetivo desses

corantes deve-se considerar a necessidade de ajustes na legislação, bem como a informação adequada do consumidor e a questão econômica.

Sob o ponto de vista técnico, são inegáveis as facilidades do emprego dos corantes sintéticos nas indústrias de alimentos, considerando que os mesmos possuem baixo custo, melhor poder tintorial, boa estabilidade e que fornecem grande faixa de coloração, proporcionando infinita variação de tons e garantindo aos processadores de alimentos a tonalidade adequada ao produto que se pretende colorir (MASCARENHAS, 1998).

O uso de pigmentos obtidos de vegetais como aditivos corantes para alimentos industrializados não é mais uma aplicação potencial e sim uma realidade comercial. A busca de matérias-primas para a produção de corantes naturais com propriedades adequadas para uso na indústria de alimentos processados tem levado pesquisadores a investigar praticamente toda a biosfera. Esses pigmentos são encontrados, principalmente, em vegetais considerados componentes da dieta humana e incluem flores, frutos, folhas, tubérculos e cereais.

Para que essas plantas sejam fontes de corante natural, são necessárias algumas características desejáveis. O fato das atuais fontes de corantes serem frutas e suas cascas, sementes ou raízes implica em uma variação da matéria prima e de seu fornecimento. Deve-se salientar que as características do pigmento obtido de fontes naturais são afetadas pelo procedimento de extração empregado.

Apesar da tendência de substituição dos corantes sintéticos pelos naturais, esses ainda são bastante utilizados por questões econômicas e tecnológicas. Entretanto, há um aumento dos questionamentos da segurança no consumo desses corantes, alegando-se sérias conseqüências na saúde e a possibilidade do seu uso indiscriminado originar intoxicações. Outro ponto muito criticado é o uso desses corantes apenas por questões culturais, valorizando apenas a aparência do alimento. Essa atitude atinge principalmente o público infantil, que é mais atraído pelas cores, sendo mais vulnerável a sua exposição.

Novas fontes de corantes estão surgindo e aumentando o número de opções para uso e aplicação em alimentos. Porém, para se assegurar a sua utilização, é necessário o desenvolvimento de estudos que investiguem seus aspectos toxicológicos associado a outras características como: ser inócuo à saúde humana, de preferência ser consumido desde longa data por alguma população; estabilidade à luz, ao pH, à oxidação; alto poder

corante; ter elevada concentração de pigmentos; ser matéria prima com elevada produção por área a preços compatíveis; de fácil cultivo e colheita; baixo custo de extração e purificação e capacidade de associação com outros compostos, como no caso da copigmentação (KATO, 1998).

Como resposta aos riscos, que leva a crescente restrição aos sintéticos, os corantes naturais ganham espaço. Trata-se, portanto, de uma conquista gradual. A definitiva consolidação do uso de corantes naturais em alimentos passa por novas fontes e novos métodos de extração dos pigmentos produzidos pelas plantas. A sua competitividade depende, portanto, de investimentos em tecnologia e prospecção.

Com base nessa busca por novas alternativas, o objetivo deste experimento foi estudar a influência de solventes hidro-alcoólicos e aquosos, considerando diferentes pHs e diferentes temperaturas sobre a qualidade do corante azul extraído de frutos de jenipapo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no laboratório de Pigmentos Naturais do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa-MG.

Foram utilizados frutos verdes de jenipapo (*G. americana*). Os frutos foram colhidos na fazenda Sempre-Viva, no município de Camacan - BA. A obtenção dos frutos foi feita diretamente no pé e a caracterização do estágio de maturação dos frutos se deu por avaliação do tamanho e rigidez, uma vez que quando maduros são inadequados. Os frutos foram colhidos nos meses de novembro e dezembro de 2006 e mantidos em freezer durante todo o período de pós-colheita e realização da pesquisa. Foi feita uma seleção e padronização do tamanho dos frutos para reduzir uma possível fonte de erro.

Nas extrações utilizou-se o envoltório polposo do jenipapo, que é a parte da polpa que envolve as sementes, juntamente com as sementes, pois testes preliminares mostraram que essa era a fração com maior intensidade de cor. A mesma fração foi utilizada nos experimentos de Penalber et al. (1996).

O envoltório polposo e as sementes dos frutos verdes foram triturados na presença dos solventes (água, solução aquosa de etanol 50% e álcool etílico 95%) com pH previamente ajustado (4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0), na proporção de 1:2 (uma parte de fruto

para duas de solvente), e levados a aquecimento em chapas aquecedoras, sob agitação. Quando atingida a temperatura desejada (35; 45; 55; 65 e 75°C), os frutos eram mantidos na temperatura de análise por trinta minutos. Cada fruto representou uma unidade experimental e a combinação de um solvente com um nível de pH e um nível de temperatura caracterizou um tratamento de interesse. O ajuste de pH das soluções extratoras foi feito com a adição de HCl e NaOH, fazendo uso de pHmetro Digimed, Modelo DM20 (São Paulo, Brasil). A temperatura foi controlada por meio de termômetro e o aquecimento sob agitação realizado em chapas aquecedoras com dispositivo para agitação magnética Fisatom, Modelo 703A (São Paulo, Brasil).

O extrato obtido foi analisado por colorimetria em um colorímetro HunterLab, modelo ColorQuest XE (Reston, USA), após ser filtrado com o auxílio de um dessorador e ser estabilizado por cerca de 24 horas. Durante esse período de estabilização os extratos foram armazenados sob refrigeração, em frascos âmbar com tampas. As condições de análise no colorímetro foram iluminante D65 e Observer 10\*. Os corantes obtidos foram comparados a um padrão sintético, o corante azul de indigotina, por ser um dos mais utilizados na indústria, juntamente com o azul brilhante, obtendo-se a leitura do desvio no colorímetro. O padrão preparado foi indigotina 0,05%, solubilizada em cada um dos três solventes utilizados para extração (água, solução aquosa de etanol 50% e álcool etílico 95%), resultando na obtenção de 3 padrões.

A variável analisada foi o desvio da cor em relação ao padrão azul de indigotina. O desvio é a diferença total dada pela Equação 1, porém os valores foram obtidos diretamente do aparelho.

$$DE = \sqrt{DL^2 + Da^2 + Db^2} \quad (1)$$

Em que:

$$DL = L_{\text{amostra}} - L_{\text{padrão}}$$

$$Da = a_{\text{amostra}} - a_{\text{padrão}}$$

$$Db = b_{\text{amostra}} - b_{\text{padrão}}$$

Utilizou-se um delineamento casualizado com 3 repetições em esquema fatorial 3x6x5, sendo três níveis de solvente (água, solução aquosa de etanol 50% e álcool etílico

95%), seis níveis de pH (4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0), e cinco níveis de temperatura (35; 45; 55; 65 e 75°C), totalizando 90 tratamentos.

As análises foram realizadas no software estatístico SAS<sup>®</sup> (SAS, 1996) utilizando um nível de 5% de significância.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura a seguir ilustra a amplitude de cores obtidas pelo corante de jenipapo (Figura 1). A Tabela 1 mostra a média dos valores quantitativos para características de cor dos extratos obtidos nas diferentes condições de extração.



Figura 1 – Extratos de corante de jenipapo obtidos em diversas condições.

Tabela 1 – Média dos valores quantitativos para características de cor dos extratos obtidos nas diferentes condições de pH e temperatura utilizados na extração

pH	Temperatura	Água			Etanol 50%			Etanol 95%		
		L	a	b	L	a	b	L	a	b
4	35°C	45.28	-2.07	2.53	43.68	-2.72	-3.18	45.33	-2.92	-7.26
	45°C	41.76	-2.98	-0.71	34.48	-2.04	-6.99	47.95	-2.66	-5.44
	55°C	43.86	-1.32	1.34	39.09	-0.83	-5.50	46.12	-2.10	-7.63
	65°C	37.39	-1.42	-0.95	35.49	-0.34	-7.94	45.91	-3.02	-7.55
	75°C	34.25	-1.12	-0.50	31.19	0.39	-5.95	41.51	-1.24	-6.01
5	35°C	43.19	-3.84	-0.95	43.91	-2.86	-2.18	46.54	-2.76	-6.40
	45°C	45.32	-3.64	-0.97	36.51	-2.39	-6.70	39.94	-2.55	-7.83
	55°C	43.30	-1.63	0.32	42.41	-1.71	-3.88	47.83	-2.2	-5.44
	65°C	39.86	-1.75	-0.59	39.95	-1.33	-5.04	45.44	-1.76	-7.85
	75°C	42.23	-1.12	5.32	37.90	-0.53	-3.19	43.79	-2.13	-3.09
6	35°C	47.97	-1.23	4.86	46.09	-2.74	-2.31	53.04	-3.54	-5.74
	45°C	46.79	-2.88	0.25	38.02	-2.33	-5.19	46.35	-3.08	-6.66
	55°C	40.35	-2.72	-1.23	35.17	-0.97	-7.40	50.49	-2.41	-4.21
	65°C	41.22	-2.18	-0.77	39.08	-0.52	-3.79	43.75	-1.67	-7.58
	75°C	38.88	-0.37	3.94	34.39	-0.13	-3.62	37.14	-1.10	-5.69
7	35°C	41.98	-3.92	-2.01	47.97	-3.62	-2.31	42.47	-2.60	-8.65
	45°C	41.44	-3.82	-1.76	43.47	-2.33	-2.90	47.56	-3.00	-5.76
	55°C	41.73	-2.30	0.44	43.25	-1.88	-4.85	48.22	-2.19	-5.97
	65°C	41.85	-2.57	-0.24	32.48	-0.12	-6.49	42.26	-1.70	-7.29
	75°C	38.01	-1.04	2.36	36.56	-0.74	-3.39	36.81	-0.39	-6.52
8	35°C	47.68	-2.03	1.8	46.20	-2.41	-0.63	46.96	-3.06	-5.91
	45°C	44.56	-3.73	-0.56	39.64	-2.77	-4.58	46.15	-3.62	-7.76
	55°C	36.96	-2.61	-3.27	40.37	-2.52	-5.01	44.17	-1.88	-8.06
	65°C	46.40	-1.42	3.97	36.70	-0.41	-5.82	41.5	-1.10	-6.17
	75°C	38.56	-0.62	3.54	34.04	-0.18	-5.04	43.50	-1.87	-5.64
9	35°C	49.83	-1.48	4.72	46.44	-2.34	-0.92	52.28	-3.01	-5.91
	45°C	44.28	-2.50	0.77	41.43	-1.74	-2.96	42.88	-2.96	-6.55
	55°C	46.62	-0.58	3.35	33.11	-1.16	-6.94	46.68	-1.59	-6.06
	65°C	41.02	-2.12	-1.46	35.98	-0.32	-5.73	44.89	-1.60	-8.24
	75°C	40.17	-1.94	0.93	34.36	0.62	-3.36	33.10	-0.62	-7.11

Pela análise de variância não foi verificada interação tripla entre os fatores solvente, pH e temperatura ( $p \leq 0,05$ ), mostrando interação significativa apenas entre pH e temperatura e entre solvente e temperatura. O desdobramento da interação pH e temperatura através de uma superfície de resposta (Figura 2) indica uma tendência geral de menor desvio em maior temperatura e menor pH, ou seja, nas condições de extração de pH 4,0 e temperatura de 75°C. O menor desvio significa uma maior proximidade com a cor do padrão.

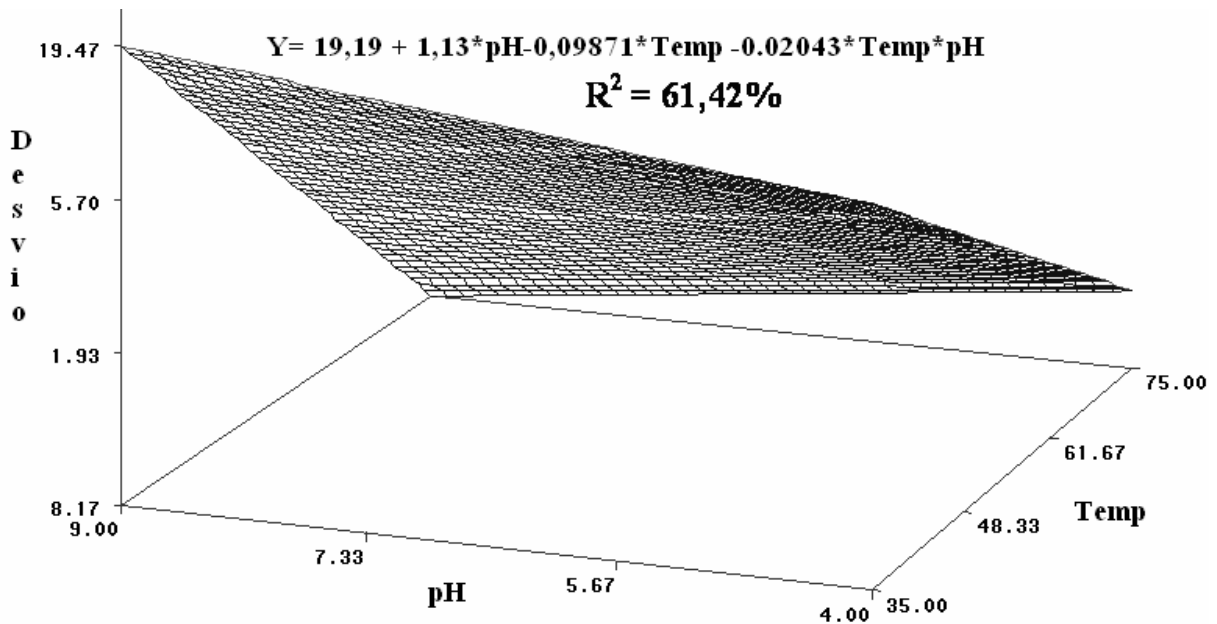


Figura 2 – Curva de superfície de resposta do desvio do extrato para as variáveis pH e temperatura.

Esses resultados são coerentes com os encontrados por Penalber et al. (1996), que relatam a variação de cor com o pH. Visualmente observou-se um maior escurecimento do azul, com tendência ao preto, quando a temperatura foi aumentada, sem, entretanto, descaracterizar a cor. Apesar disso, o desvio diminuiu, pois o azul de indigotina tem uma cor bem escura e saturada, ou seja, à medida que se aumentava a temperatura, a intensidade da cor também aumentava e essa ficava mais próxima do padrão, refletindo num menor desvio. Esse resultado justifica-se pelo fato dos extratos não terem atingido o limite de temperatura (80°C), o que possibilitou a manutenção da cor (PENALBER et al., 1996).

Os resultados são contraditórios aos relatados por Nazaré (1998) no que diz respeito ao pH, que menciona o uso de solução diluída de NaOH, para a extração de corante de jenipapo. Entretanto, como não há nenhuma avaliação das características da cor obtida ou comparação com algum outro corante sintético, não é possível fazer comparações entre os trabalhos.

No desdobramento da interação entre solvente e temperatura, os extratos etanólicos tanto a 50% quanto a 95% apresentaram um comportamento similar (Figuras 3 e 4). Ambos os solventes apresentaram diminuição linear do desvio em relação ao padrão azul de indigotina quando a temperatura foi aumentada. O decréscimo do desvio significa que o



corante obtido está com as características de tonalidade e saturação mais próximas do padrão. Dessa forma os resultados indicam que os corantes produzidos nas temperaturas mais elevadas assemelham-se mais ao padrão. Esse resultado sugere que a reação é acelerada pelo aumento da temperatura.

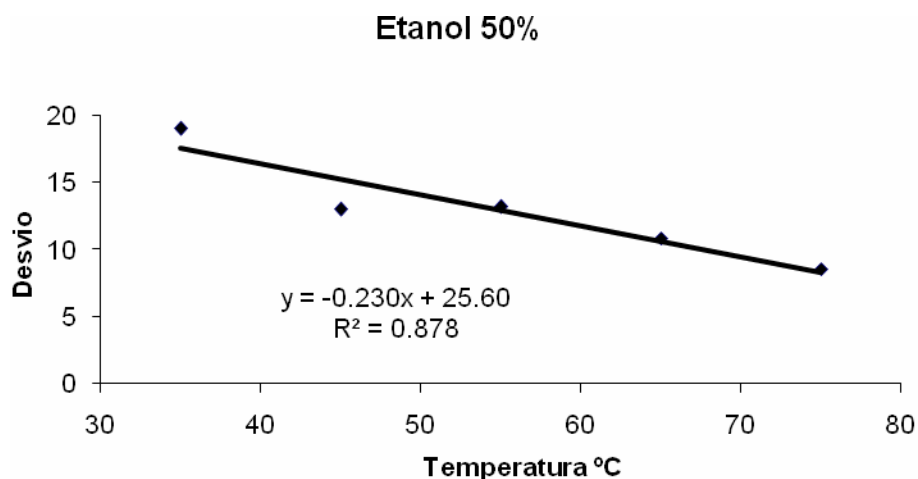


Figura 3 - Comportamento da coloração expressa em desvio na extração com solvente etanol 50% em relação à temperatura.

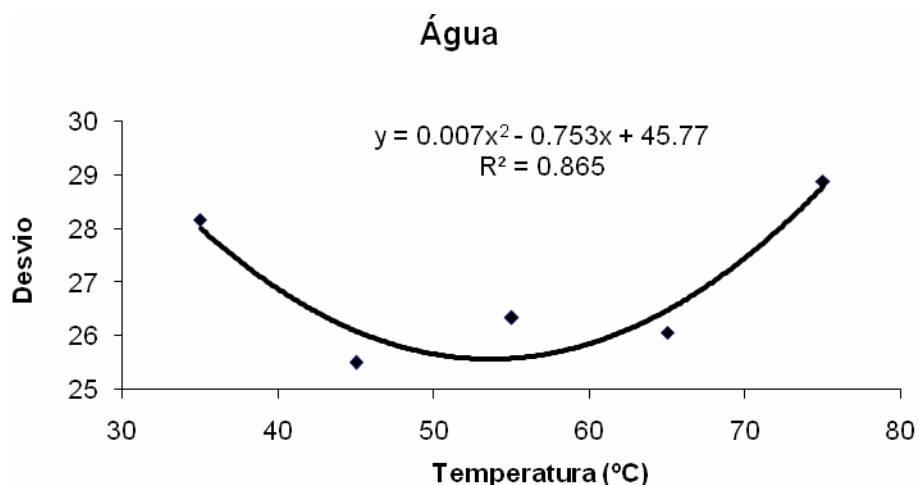


Figura 4 - Comportamento da coloração expressa em desvio na extração com solvente etanol 95% em diferentes temperaturas.

Em relação ao solvente água, notou-se um comportamento diferente. Enquanto as soluções de etanol 50% e 95% mantiveram o comportamento obtido com o desdobramento da interação pH x temperatura, com ótimo em temperatura de 75°C, a água apresentou um comportamento de parábola, com ótimo em torno de 55°C (Figura 5). Além disso, a amplitude da variação foi menor do que para os extratos etanólicos. Essa variação pode ser justificada pelo padrão utilizado, uma vez que o azul de indigotina apresenta coloração menos intensa quando dissolvido em água. A observação visual mostra um aumento na intensidade da cor com o aumento da temperatura. Dessa forma, em temperaturas mais baixas não se tem uma formação satisfatória de cor, e em temperaturas mais elevadas a cor afasta-se do padrão em água, aumentando novamente o desvio.

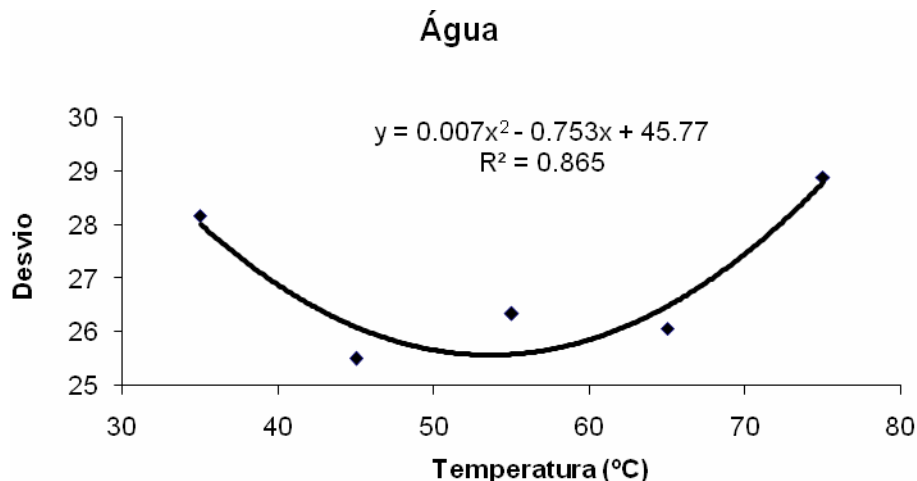


Figura 5 - Comportamento da coloração expressa em desvio na extração com solvente água em relação à temperatura.

Verificou-se visualmente uma grande variação no experimento de uma unidade experimental para outra. Apesar de ter sido feita uma padronização do tamanho dos frutos para evitar uma possível fonte de erro, uma vez que Penalber et al. (1996) já haviam relatado a variação da intensidade do corante em função do tamanho dos frutos verdes, essa não foi uma medida suficientemente eficaz na minimização do erro experimental. A variação de fruto para fruto era muitas vezes percebida já no momento que esse era aberto, quando alguns já apresentavam coloração azul (Figura 6). Essa variação talvez seja mais do momento de maturação do fruto e/ou pela ocorrência de injúrias não perceptíveis, pois em

outra avaliação visual dos frutos percebeu-se que quando amassados esses apresentaram cor azul na região injuriada.

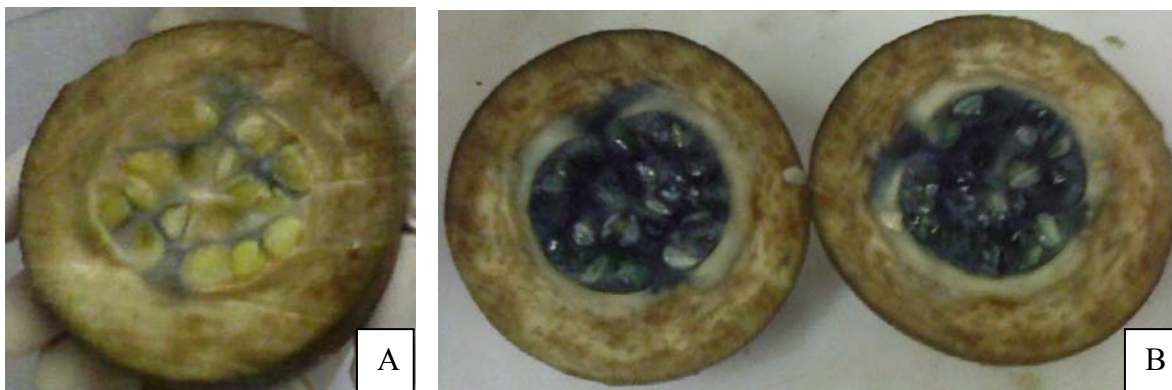


Figura 6 – Fruto verde de jenipapo normal (A) e com formação prévia de coloração azul (B).

#### 4. CONCLUSÃO

Conforme relatado na literatura, o jenipapo mostrou-se fonte de corante azul. Foi possível obter o corante tanto em água, como em solução aquosa de etanol a 50% e 95%, sendo observada uma coloração mais intensa e escura nas soluções com etanol.

A extração foi afetada tanto pelo pH da solução solvente utilizada, quanto pela temperatura empregada. Os corantes obtidos foram se aproximando dos padrões a medida que o pH diminuía e a temperatura aumentava, sendo o ótimo em pH 4,0 e temperatura de 75°C. A temperatura ótima para as soluções etanólicas também foi a 75°C. O mesmo não foi observado para a água, que apresentou melhor extração em 55°C.

## CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DE pH, OXIGÊNIO E LUZ NA ESTABILIDADE DA COR DOS EXTRATOS

### 1. INTRODUÇÃO

A utilização dos corantes naturais requer o conhecimento químico de suas moléculas para adaptá-las às condições de uso em processos, embalagens e distribuição. Atualmente, permite-se o uso de sete corantes artificiais por diversas razões técnicas: estabilidade, pureza, disponibilidade e superioridade tecnológica com relação aos corantes naturais. Por outro lado, a utilização dos artificiais é limitada por diversos fatores: imposições legais, publicidade adversa e interesse do consumidor por produtos naturais.

Vários fatores afetam a estabilidade da cor em alimentos pigmentados durante a preparação, o processamento e a estocagem. Estes fatores incluem calor, pH, luz, presença ou ausência de oxigênio, metais e outros químicos e atividade de água.

Com base no crescente interesse pelos corantes naturais em função dos possíveis riscos associados aos sintéticos, elevou-se consideravelmente o volume de pesquisas em pigmentos naturais, sua estrutura química, reações e estabilidade. Grande parte dessas investigações foi voltada para a estabilização de pigmentos naturais mediante tratamentos físicos ou químicos (PIMENTEL, 1995).

Essa tendência é ainda mais forte no exterior e aos poucos vem crescendo no Brasil. Isso obriga as principais indústrias e centros de pesquisa a desenvolverem estudos para permitir o uso mais intenso de corantes naturais. É um esforço concentrado e que se aproveita da cautela mundial com os corantes sintéticos, contra os quais vários estudos ao longo dos anos vêm apontando problemas de alergia e outros malefícios à saúde, como hiperatividade, entre outros. A notoriedade que os corantes naturais vêm assumindo deve-se não só à tendência mundial de consumo de produtos naturais, mas também às propriedades funcionais atribuídas a alguns desses pigmentos. O apelo mercadológico estimula cada vez mais o desenvolvimento de novos estudos com o intuito de superar as limitações tecnológicas existentes.

A legislação brasileira, quanto à adoção de corantes e outros aditivos, está respaldada nas recomendações do JECFA (Comitê FAO/OMS “Joint Experts in Food

Additives”), que elaborou, ao lado das especificações de identidade e pureza, as condutas a serem observadas no trato dos estudos toxicológicos e as decisões sobre avaliações toxicológicas.

Para os corantes naturais, a avaliação toxicológica deve ser considerada para três grupos: a) corante isolado quimicamente inalterado de um alimento e usado no produto em níveis normalmente nele encontrados, este corante é aceito como se fosse ingrediente próprio do alimento, não sendo necessários dados toxicológicos; b) corante isolado quimicamente inalterado de um alimento usado no produto em níveis superiores aos normalmente nele encontrados, este corante deve ser avaliado como se fosse artificial; e c) corante isolado de um alimento, porém quimicamente modificado durante a sua obtenção, ou, então, extraído de outra fonte não-alimentar; este corante deve ser avaliado toxicologicamente como se fosse corante artificial (PIMENTEL, 1995).

A instabilidade inerente aos pigmentos naturais não impede a sua utilização em alimentos, uma vez que se tem demonstrado a sua viabilidade na indústria, em virtude de certas modificações no processamento de determinados produtos, como por exemplo, a adição do corante no final do processamento de doces cozidos e, acondicionamento em embalagens adequadas para retardar o efeito da luz, principalmente em produtos líquidos (PIMENTEL, 1995). A estabilidade inferior dos corantes naturais, em detrimento aos artificiais, não é um fator que inviabilize sua utilização em produtos alimentícios, face às adaptações no processamento e embalagem dos produtos, adotados pelas indústrias. Com os avanços tecnológicos, a susceptibilidade à oxidação e a insolubilidade são problemas superáveis (SILVA, 2001). Porém, as informações a respeito da toxicidade e de atividades funcionais tanto de corantes naturais quanto artificiais são contraditórias, de certa forma, e merecem maiores pesquisas.

Os pigmentos naturais são sensíveis a temperatura, luz, pH e oxigênio, os quais interferem na estabilidade dos mesmos. Isso tem incentivado inúmeros estudos visando detectar os limites de suscetibilidade a esses parâmetros que, se definidos, certamente contribuirão para a sua aplicação em produtos alimentícios, farmacêuticos e outros (SILVA, 2001).

Sendo assim, o presente experimento objetivou avaliar a influência do pH do meio, da atmosfera parcialmente inerte e do efeito da luz na estabilidade dos pigmentos de jenipapo obtidos por diferentes solventes.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no laboratório de Pigmentos Naturais do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa-MG.

Frutos verdes de jenipapo foram colhidos na fazenda Sempre-Viva, no município de Camacan - BA. A coleta dos frutos foi feita diretamente no pé e a caracterização de fruto como verde se deu por avaliação do tamanho e rigidez dos frutos, uma vez que quando maduros são inadequados para a produção de pigmentos. Os frutos foram colhidos nos meses de novembro e dezembro de 2006 e mantidos em freezer durante todo o período de pós-colheita e realização da pesquisa.

Para os testes de estabilidade foram feitas extrações com os solventes etanólicos (50% e 95%), pois foram os que apresentaram visualmente maior poder extrator, originando extratos com maior intensidade da cor azul. A escolha dos solventes alcoólicos em detrimento da água foi também fundamentada na viabilidade econômica da obtenção dos corantes, uma vez que a eliminação de água torna o processo demorado e caro. As extrações foram efetuadas nas condições ótimas definidas nos testes de extração no capítulo 1: pH 4,0 e 75°C.

Os extratos obtidos foram submetidos a diferentes condições de armazenamento, visando avaliar o efeito dos parâmetros pH (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência) na estabilidade dos mesmos. Dessa forma foram obtidos 8 tratamentos distintos, caracterizados pela combinação dos parâmetros a serem avaliados. Os tratamentos são descritos a seguir e ilustrados na Figura 1: T1→ pH 4,0 / oxigênio / luz; T2→ pH 4,0 / oxigênio / escuro; T3→ pH 4,0 / nitrogênio / luz; T4→ pH 4,0 / nitrogênio / escuro; T5→ pH 6,0 / oxigênio / luz; T6→ pH 6,0 / oxigênio / escuro; T7→ pH 6,0 / nitrogênio / luz; T8→ pH 6,0 / nitrogênio / escuro.

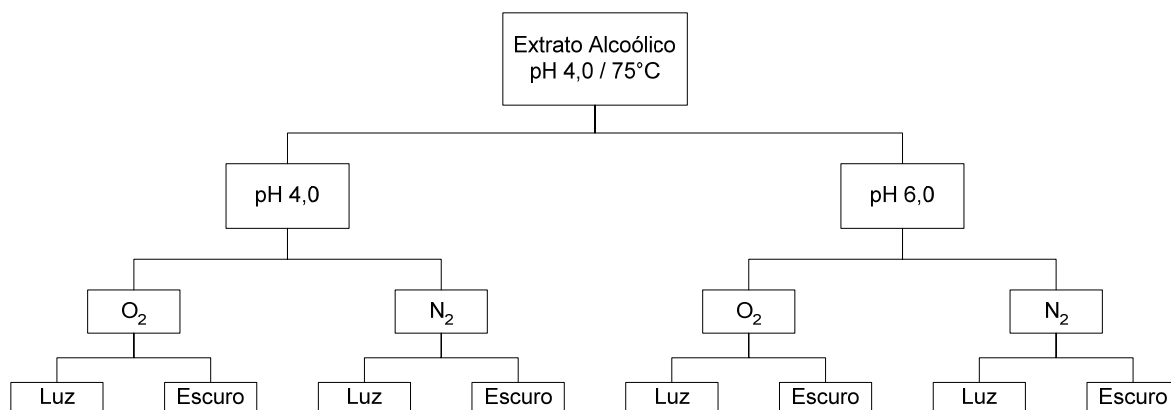


Figura 1 – Fluxograma representativo do experimento do estudo da estabilidade dos extratos.

Para avaliar o efeito do pH diluíram-se 15 mL do extrato em 30 mL de solução tampão de ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ) / bifosfato de sódio ( $Na_2HPO_4$ ) em pH 4,0 e 6,0. Os valores de pH foram definidos por representarem a faixa utilizada em alimentos.

Para o estudo da estabilidade à luz foram utilizados frascos de cor âmbar e frascos transparentes de 60 mL, providos de tampa de borracha auto-selante e lacre de alumínio. A cada frasco foram adicionados 45 mL da solução do extrato de jenipapo com a solução tampão. Aos extratos foi adicionado sorbato de potássio, na concentração de 0,01%, para evitar o crescimento fúngico.

Uma parte desses frascos foi colocada em um suporte de madeira posicionado entre duas lâmpadas fluorescentes de 40 w, 2.500 lux, correspondente à luz do dia, a uma distância de 40 cm dos frascos em temperatura ambiente. O restante dos frascos permaneceu, à mesma temperatura, porém no escuro. Metade dos frascos antes de serem lacrados, foi submetida a um fluxo de nitrogênio, para a redução do oxigênio residual.

O extrato obtido foi analisado por colorimetria em um colorímetro HunterLab, modelo ColorQuest XE (Reston, USA). As condições de análise no colorímetro foram iluminante D65 e Observer 10\*. As leituras colorimétricas dos desvios em relação ao padrão foram feitas a cada 7 dias por um período de 6 semanas. Os padrões eram as amostras no tempo zero, ou seja, logo após a extração. Dessa forma foram estabelecidos quatro padrões, pois o parâmetro luz não tinha como ser aplicado previamente.

As variáveis analisadas foram o desvio da cor em relação ao padrão, a tonalidade e a saturação, sendo essas últimas obtidas a partir dos valores de  $a$  e  $b$  fornecidos pelo colorímetro e aplicados nas fórmulas de  $c$  e  $h$  (Equações 1 e 2).

$$c = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (1)$$

$$h^\circ = \arctan(b/a) \quad (2)$$

Em que:

$c$  é o índice de saturação da cor.

$h^\circ$  é o ângulo de tonalidade da cor.

Utilizou-se um delineamento casualizado com 3 repetições em esquema fatorial 8x6, sendo oito níveis de tratamentos (T1→ pH 4,0 / oxigênio / luz; T2→ pH 4,0 / oxigênio / escuro; T3→ pH 4,0 / nitrogênio / luz; T4→ pH 4,0 / nitrogênio / escuro; T5→ pH 6,0 / oxigênio / luz; T6→ pH 6,0 / oxigênio / escuro; T7→ pH 6,0 / nitrogênio / luz; T8→ pH 6,0 / nitrogênio / escuro) e seis níveis de tempo (1, 2, 3, 4, 5 e 6 semanas).

As análises foram realizadas no software estatístico SAS<sup>®</sup> (SAS, 1996) utilizando um nível de 5% de significância.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 4 apresentam os testes de comparação de médias para a variável desvio, considerando os solventes etanol 50% e 95%, respectivamente. Neste caso foi adotado o teste de Tukey, embora os tratamentos sejam identificados por níveis quantitativos (tempos). Este procedimento foi adotado porque não era de interesse avaliar o efeito de tempos intermediários não estudados, ou seja, não era de interesse realizar análise de regressão. Além disso, o comportamento das variáveis analisadas ao longo do tempo não permitiu o ajuste de nenhum modelo de regressão (Figuras 2 e 3).



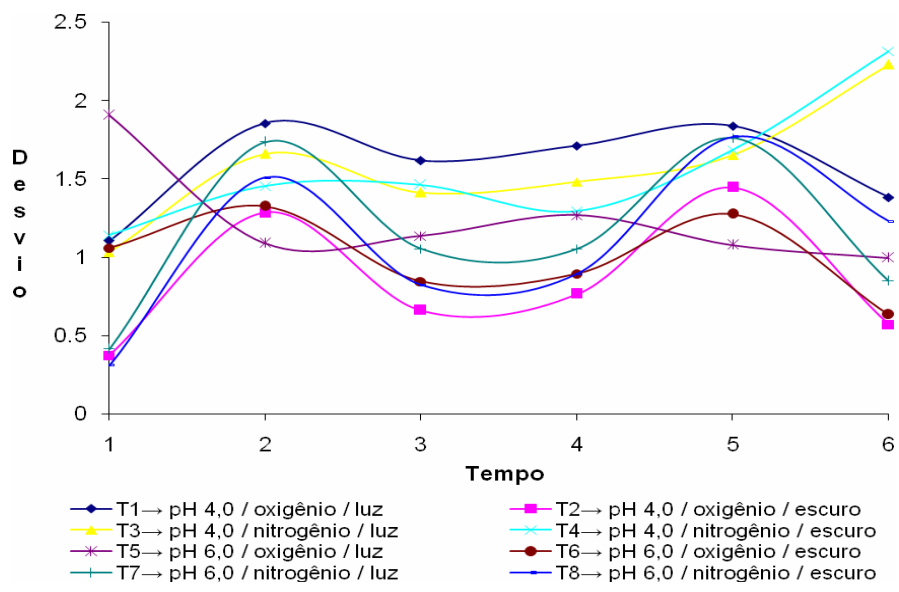


Figura 2 – Comportamento do desvio em relação ao padrão dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

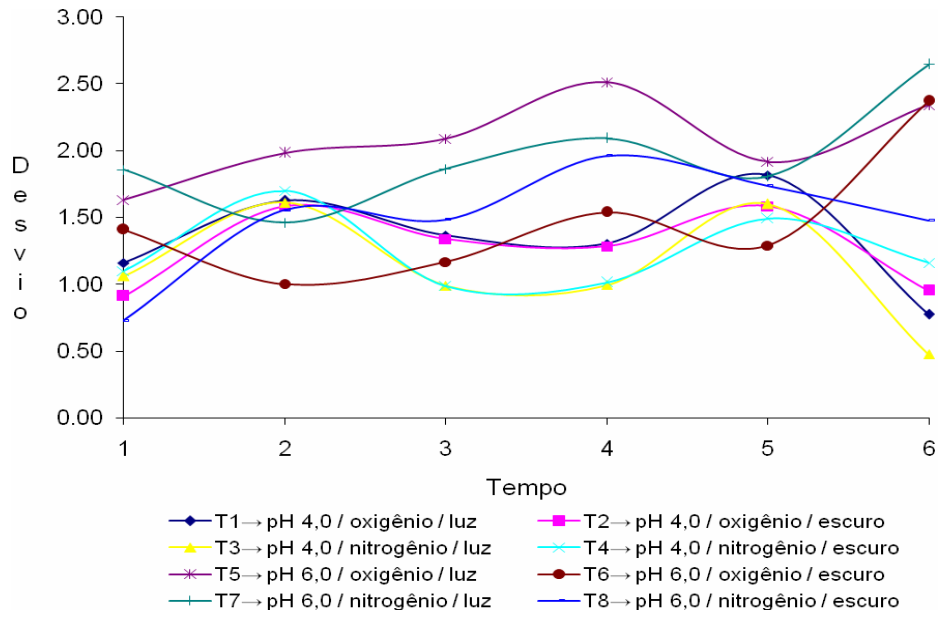


Figura 3 – Comportamento do desvio em relação ao padrão dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

Todos os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 4 indicam que existem diferenças entre os tempos considerados, embora a amplitude dos valores das médias seja pequena.

De forma geral, para obtenção de resultados de ordem técnica e laboratorial, mesmo a amplitude dos desvios sendo de pequena magnitude, é interessante discutir as diferenças significativas entre as médias, pois as mesmas podem ser usadas para aprimorar a elaboração de experimentos futuros.

### 3.1. ESTABILIDADE DOS EXTRATOS OBTIDOS COM ETANOL 50%

A análise de variância para o solvente etanol a 50 % mostrou interação significativa entre tratamentos e tempo, o que significa que houve diferença entre os tratamentos durante o tempo de estocagem.

De modo geral os tratamentos apresentaram comportamento bem similar, alterando-se apenas as intensidades dos desvios em relação ao padrão, com picos de máximo no tempo 2 e no tempo 5, que correspondem a duas e cinco semanas de estocagem respectivamente. O tratamento 5 (pH 6,0 / oxigênio / luz) apresentou um comportamento um pouco diferente dos demais.

Aplicando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de significância para comparar os tratamentos em cada tempo, não houve diferença significativa entre os tratamentos na primeira semana, tempo 1 (Tabela 1). Com o passar do tempo, de modo geral, o tratamento 1 (pH 4,0/ oxigênio/ luz) foi o que apresentou pior desempenho, tempos 2, 3, 4 e 5, caracterizado por maior desvio, e o tratamento 2 (pH 4,0/ oxigênio/ escuro) foi o que apresentou menor desvio na maior parte do tempo, tempos 3, 4 e 6, ou seja, uma menor variação da cor durante a estocagem. Em alguns momentos, tempos 2 e 5, T5 (pH 6,0 / oxigênio / luz) apresentou menor desvio, mas quando isso foi observado, não houve diferença significativa entre as médias de T5 (pH 6,0 / oxigênio / luz) e T2 (pH 4,0 / oxigênio / escuro), permitindo assim apontar T2 como o melhor.

Tabela 1 – Médias dos desvios dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

Tempo 1			Tempo 2			Tempo 3			Tempo 4			Tempo 5			Tempo 6		
T5	1.90	a	T1	1.85	a	T1	1.62	a	T1	1.71	a	T1	1.84	a	T4	2.31	a
T4	1.14	a	T7	1.73	ab	T4	1.46	ab	T3	1.48	ab	T8	1.77	ab	T3	2.23	ab
T1	1.10	a	T3	1.66	ab	T3	1.41	b	T4	1.29	abc	T7	1.76	ab	T1	1.38	bc
T6	1.06	a	T8	1.51	abc	T5	1.13	c	T5	1.27	abc	T4	1.68	ab	T8	1.23	c
T3	1.03	a	T4	1.45	abc	T7	1.05	c	T7	1.05	bcd	T3	1.65	abc	T5	0.99	c
T7	0.41	a	T6	1.32	abc	T6	0.85	d	T6	0.89	cd	T2	1.44	bcd	T7	0.85	c
T2	0.37	a	T2	1.28	bc	T8	0.82	de	T8	0.89	cd	T6	1.27	cd	T6	0.63	c
T8	0.31	a	T5	1.09	c	T2	0.66	e	T2	0.76	d	T5	1.08	d	T2	0.57	c

\*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Apesar da diferença entre T1 (pH 4,0 / oxigênio / luz) e T2 (pH 4,0 / oxigênio / escuro) indicar uma melhor conservação em ambiente sem luz, o mesmo não se observa quando analisadas as médias dos outros tratamentos cuja diferença é somente a presença ou ausência de luz, como é o caso dos tratamentos T3 e T4, T5 e T6, T7 e T8. Esses tratamentos apresentaram comportamentos bem similares ao longo do tempo e sem diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Essa não diferenciação dos tratamentos no claro e no escuro também foi observada no trabalho de Butler et. al (2003), que não observaram diferenças qualitativas entre misturas de quitosana e genipina deixadas no escuro ou sob luz. Esse comportamento justifica-se principalmente se considerarmos que essa é uma reação de polimerização e que, uma vez iniciada, tem seu desenvolvimento contínuo.

Os resultados sugerem uma relação entre o pH e a presença ou ausência de oxigênio, com tendência ao favorecimento do desvio pela presença de oxigênio. Quando observados separadamente os tratamentos que estavam sob oxigênio atmosférico dos que receberam nitrogênio, os tratamentos em maior pH (pH 6,0) apresentaram os menores desvios. Nos tempos 2 e 5 não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey entre os tratamentos. Nos outros tempos verificaram-se diferenças entre os grupos de maior

e menor pH, com menor desvio nos de maior pH. A presença de hidroxilas na molécula de genipina pode ser a responsável por essa diferença, uma vez que em menor pH as hidroxilas devem estar mais desprotonadas e isso pode afetar na coloração do pigmento. O trabalho de Butler et al. (2003) também relata uma influência significativa da exposição ao ar da mistura de quitosona e genipina no desenvolvimento da coloração azul, com maior formação de cor próxima à superfície. Entretanto, vale ressaltar que quando usados outros agentes para a formação de géis, a formação da cor foi uniforme. Esse fato demonstra a importância de outros fatores na formação e manutenção da cor, como o substrato.

Ao se utilizar o teste de Tukey para comparar a saturação de cor dos tratamentos em cada tempo, confirma-se a superioridade do tratamento 2 (pH 4,0 / oxigênio / escuro), uma vez que este mostra-se estatisticamente diferente dos demais nos tempos 1, 3, 4 e 6. Porém, nos tempos 2 e 5 este tratamento apresentou o mesmo efeito que T4 (pH 4,0 / nitrogênio / escuro) ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2). Esse resultado sugere a importância do pH 4,0 e do escuro na obtenção de um corante com boa estabilidade e maior saturação, bem como a pouca interferência da aplicação de nitrogênio. Isso ressalta o indício de que o oxigênio atua apenas como catalisador da reação de formação do pigmento.

Tabela 2 – Médias de croma ou saturação da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

Tempo 1			Tempo 2			Tempo 3			Tempo 4			Tempo 5			Tempo 6		
T2	3.03	a	T2	2.74	a	T2	2.48	a	T2	2.33	a	T2	2.37	a	T2	2.49	a
T3	2.07	b	T4	2.44	ab	T3	1.70	b	T4	1.77	b	T4	1.96	ab	T4	2.00	b
T1	2.05	bc	T3	1.96	bc	T4	1.60	bc	T3	1.64	bc	T3	1.85	bc	T3	1.99	b
T6	2.02	bc	T1	1.87	c	T1	1.53	cd	T1	1.44	bc	T1	1.63	bc	T1	1.73	bc
T4	2.02	bc	T6	1.83	c	T6	1.51	cd	T6	1.35	bc	T6	1.50	bc	T6	1.54	cd
T5	2.00	bc	T8	1.78	c	T8	1.44	de	T8	1.35	bc	T8	1.49	bc	T8	1.52	cd
T8	1.90	cd	T5	1.69	c	T5	1.34	ef	T7	1.23	c	T7	1.36	c	T7	1.46	cd
T7	1.83	d	T7	1.65	c	T7	1.27	f	T5	1.18	c	T5	1.34	c	T5	1.35	cd

\*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

No que se refere à tonalidade da cor, o comportamento dos tratamentos também foi similar, com picos observados nos tempos 3 e 4. Os tratamentos 5 (pH 6,0 / oxigênio / luz ) e 1 (pH 4,0 / oxigênio / luz) apresentaram as maiores tonalidades, alternando o melhor desempenho entre eles e em alguns momentos não apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). Entretanto, esses maiores valores podem não ser muito interessantes, uma vez que estão muito próximos ao final da faixa da tonalidade azul ( $200^\circ$  a  $295^\circ$ ) e entrando na tonalidade violeta, saindo em alguns momentos da tonalidade azul.

Tabela 3 – Médias de tonalidade da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 50%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

Tempo 1		Tempo 2		Tempo 3		Tempo 4		Tempo 5		Tempo 6	
T1	288 a	T1	286 a	T5	296 a	T5	298 a	T5	292 a	T5	294 a
T5	285 b	T5	284 b	T7	295 a	T1	294 b	T1	289 ab	T7	289 b
T3	284 bc	T3	284 b	T1	294 a	T7	294 bc	T7	289 ab	T1	288 bc
T7	283 bc	T7	283 b	T3	290 b	T6	291 bcd	T6	286 bc	T6	288 bc
T4	281 cd	T6	281 c	T6	289 b	T3	290 cd	T3	285 bcd	T8	287 bcd
T6	280 d	T2	280 cd	T8	289 b	T8	289 de	T8	284 bcd	T3	284 cde
T2	280 d	T8	279 d	T4	287 bc	T4	286 ef	T4	283 cd	T4	283 de
T8	279 d	T4	279 d	T2	284 c	T2	284 f	T2	281 d	T2	281 e

\*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

### 3.2. ESTABILIDADE DOS EXTRATOS OBTIDOS COM ETANOL 95%

Assim como para o etanol 50%, verificaram-se diferenças entre os tratamentos ao longo do tempo de estocagem para a variável desvio, com detalhe para uma menor uniformidade dos comportamentos.

Nos tempos 1 e 5 não houve diferença significativa entre as médias ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. De modo geral não foi verificado um tratamento que tenha se destacado como melhor, entretanto, o tratamento 5 (pH 6,0/ oxigênio/ luz)

apresentou maior média na maior parte do tempo, tempos 2, 3, 4 e 5, o que indica um maior desvio e conseqüentemente uma maior alteração da cor durante o armazenamento (Tabela 4).

Não se verificou diferenças significativas ao longo do tempo ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos armazenados em pH 4,0 (T1, T2, T3 e T4).

Tabela 4 – Médias de desvio da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

	Tempo 1		Tempo 2		Tempo 3		Tempo 4		Tempo 5		Tempo 6			
T7	1.86	a	T5	1.98	a	T5	2.09	a	T5	1.92	a	T7	2.64	a
T5	1.63	a	T4	1.70	b	T7	1.86	ab	T7	2.09	ab	T6	2.37	ab
T6	1.41	a	T1	1.63	b	T8	1.48	abc	T8	1.96	abc	T7	1.81	a
T1	1.16	a	T3	1.61	b	T1	1.36	bc	T6	1.54	bcd	T8	1.74	a
T4	1.10	a	T2	1.58	b	T2	1.34	bc	T1	1.30	cd	T3	1.60	a
T3	1.06	a	T8	1.55	b	T6	1.17	c	T2	1.28	cd	T2	1.58	a
T2	0.91	a	T7	1.46	b	T3	0.99	c	T4	1.01	d	T4	1.49	a
T8	0.73	a	T6	1.00	c	T4	0.99	c	T3	0.99	d	T6	1.29	a
												T3	0.48	c

\*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Comparando os tratamentos armazenados na ausência e presença de oxigênio percebeu-se menor estabilidade naqueles estocados em maior valor de pH (pH 6,0), resultado contrário ao obtido em etanol 50%. No grupo dos submetidos à atmosfera com oxigênio, o tratamento 5 (pH 6,0/ oxigênio/ luz) foi o que apresentou pior desempenho. Nesse caso, a presença maior de álcool pode contribuir para a alteração do pH e conseqüentemente da estabilidade.

Já no grupo dos tratamentos armazenados em atmosfera inerte verificou-se uma separação nos tempos 3 e 4 entre os tratamentos de pH iguais: T3 (pH 4,0 / nitrogênio / luz) e T4 (pH 4,0 / nitrogênio / escuro); T5 (6,0 / oxigênio / luz) e T6 (pH 6,0 / oxigênio /

escuro), com melhor desempenho, ou seja maior estabilidade verificada nos tratamentos submetidos a valores inferiores de pH: T3 (pH 4,0 / nitrogênio / luz) e T4 (pH 4,0 / nitrogênio / escuro).

No que se refere à saturação de cor dos tratamentos, num primeiro momento há um melhor desempenho dos tratamentos de maior pH (6,0), com destaque para o tratamento 6 (pH 6,0/ oxigênio/ escuro), como mostrado na Tabela 5. A partir do tempo 5 não há mais essa nítida distinção entre os tratamentos, e a diferença estatística entre os mesmos passa a ser não significativa ( $p > 0,05$ ), mesclando os dois grupos de pH.

Tabela 5 – Médias de croma e saturação da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

Tempo 1		Tempo 2		Tempo 3		Tempo 4		Tempo 5		Tempo 6	
T6	2.86 a	T6	2.41 a	T6	2.23 a	T6	2.26 a	T6	2.12 a	T3	1.97 a
T8	2.76 a	T8	2.32 ab	T8	2.06 ab	T8	1.93 b	T4	1.92 ab	T1	1.94 a
T7	2.68 a	T7	2.15 bc	T7	1.71 bc	T7	1.49 c	T8	1.90 ab	T8	1.92 a
T5	2.42 ab	T4	2.03 cd	T5	1.54 c	T3	1.48 c	T3	1.89 ab	T4	1.92 a
T2	2.00 bc	T2	2.00 cd	T3	1.54 c	T1	1.48 c	T2	1.84 ab	T2	1.88 ab
T4	1.96 bc	T3	1.99 cd	T4	1.53 c	T4	1.48 c	T1	1.74 b	T6	1.74 ab
T3	1.87 c	T1	1.88 de	T2	1.52 c	T2	1.46 c	T7	1.68 b	T7	1.59 bc
T1	1.87 c	T5	1.78 e	T1	1.48 c	T5	1.19 d	T5	1.60 b	T5	1.39 c

\*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A Tabela 6 apresenta a variação da tonalidade de cor ao longo do tempo de armazenamento. Os comportamentos são similares, com exceção do tratamento 6 (pH 6,0 / oxigênio / escuro) que apresenta uma curva menos acentuada e com menores valores, e de T5 que apresenta um comportamento diferente. Esse comportamento similar é confirmado pelo teste Tukey que só não apresentou grandes grupos de diferença de médias não significativas ( $p < 0,05$ ) nos tempos 2 e 4, onde T5 apresentou maior tonalidade, mas, do

mesmo modo que no solvente a 50%, essa maior tonalidade não é interessante pois saiu da faixa de tonalidade do azul.

Tabela 6 – Médias de tonalidade da cor dos tratamentos ao longo do tempo de armazenamento em semanas, em solvente etanol 95%, para diferentes pHs (4,0 e 6,0), oxigênio (presença e atmosfera inerte) e luz (presença e ausência).

Tempo 1		Tempo 2		Tempo 3		Tempo 4		Tempo 5		Tempo 6	
T1	285 a	T5	287 a	T5	293 a	T5	303 a	T1	287 a	T5	291 a
T3	283 a	T1	283 b	T1	292 a	T1	292 b	T5	283 ab	T7	288 a
T5	282 a	T3	280 bc	T2	290 a	T3	289 bc	T7	283 ab	T1	284 a
T2	282 a	T2	280 bc	T3	289 ab	T2	289 bc	T2	283 ab	T2	284 a
T4	281 a	T4	279 cd	T4	288 ab	T4	287 bcd	T3	282 ab	T8	284 a
T8	278 ab	T8	279 cd	T7	284 ab	T7	286 cd	T4	281 ab	T3	283 a
T7	277 ab	T7	276 d	T8	282 ab	T8	283 d	T8	280 ab	T4	280 a
T6	268 b	T6	271 e	T6	271 b	T6	270 e	T6	270 b	T6	270 a

\*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Esses dados sugerem uma homogeneidade de tonalidade ao longo do tempo de armazenamento, ao empregar etanol 95% como solvente extrator dos pigmentos de jenipapo.

#### 4. CONCLUSÃO

Houve interação significativa entre tratamentos e tempo, o que significa que houve diferença entre os tratamentos durante o tempo de estocagem.

Para a solução de etanol 50%, o tratamento nas condições de pH 4,0 / oxigênio / escuro foi aquele que apresentou menores desvios, caracterizando como o de melhor desempenho. Este mesmo tratamento foi o que apresentou maior saturação da cor. Já o tratamento em pH 4,0 / oxigênio / luz foi o que teve os maiores desvios, conseqüentemente



aquele de pior desempenho. No entanto, foi o que apresentou a maior tonalidade, juntamente com o tratamento nas condições de pH 6,0 / oxigênio / luz, mas que em alguns momentos saíram da faixa de tonalidade do azul.

Para o solvente etanol 95% observou-se uma menor estabilidade nos tratamentos em maior pH (6,0), com pior desempenho quando o pH 6,0 estava associado à presença de oxigênio e luz. Na saturação da cor o inverso foi observado, com melhor desempenho dos tratamentos em pH 6,0 e destaque para as condições de pH 6,0 / oxigênio / escuro. Houve ainda uma tendência de uniformização da tonalidade.

Os resultados indicam que houve alterações mais intensas nos tratamentos quando utilizada solução de etanol 50% como solvente extrator.

## CONCLUSÃO GERAL

O jenipapo mostrou-se fonte de corante azul, sendo possível obter o corante tanto em água, como em solução aquosa de etanol a 50% e 95%, sendo observada uma coloração mais intensa e escura nas soluções com etanol.

A extração foi afetada tanto pelo pH da solução solvente utilizada, quanto pela temperatura empregada, obtendo-se melhor extração em pH 4,0 e temperatura de 75°C. Entretanto, a água apresentou melhor extração em 55°C.

Houve interação significativa entre os tratamentos e o tempo de armazenamento nas soluções extraídas em etanol 50% e 95%. Para a solução de etanol 50%, o tratamento nas condições de pH 4,0 / oxigênio / escuro foi aquele que apresentou melhor manutenção da cor e maior saturação. Já o tratamento em pH 4,0 / oxigênio / luz foi o que teve pior desempenho.

Para o solvente etanol 95% observou-se uma menor estabilidade nos tratamentos em maior pH (6,0), com pior desempenho quando o pH 6,0 estava associado à presença de oxigênio e luz. Na saturação da cor o inverso foi observado, com melhor desempenho dos tratamentos em pH 6,0 e destaque para as condições de pH 6,0 / oxigênio / escuro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. A. C.; METRI, J. C.; BARROS NETO, B. de; GUERRA, N. B. Desidratação osmótica do jenipapo (*Genipa americana* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 23, v. 2, p. 276-281, 2003.

ALVES, G. L. **Compostos voláteis importantes para o aroma de jenipapo (*Genipa americana* L.) e murici (*Byrsonima crassifolia* L. RICH)**. 2004. 136 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ARAÚJO, J. M. A. Corantes Naturais. In: **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2001. p. 359 – 363.

BORGES, E. S.; REZENDE, C. M. Main aroma constituents of genipap (*Genipa americana* L.) and bacuri (*Platonia insignis* M.). **Journal of Essential Oil Research**, n. 12, p. 71-74, 2000.

BUTLER, M. F.; YIU-FAI, NG.; PUDNEY, P. D. A. Mechanism and Kinetics of the Crosslinking Reaction between Biopolymers Containing Primary Amine Groups and Genipin. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, v. 41, p. 3941 – 3953, 2003.

CRUZ, P. E. N.; PEREIRA, S. S. Estudo de frutos do estado do Maranhão – oiti, murici e jenipapo. **Encontro de Profissionais de Química da Amazônia 5.**, 1985, São Luiz. Anais. São Luiz, 1985.

EPSTEIN, L. Cultivo e aproveitamento do jenipapo. **Bahia Agrícola**, v. 4, n. 3, p. 23-24, 2001.

a) FIGUEIREDO, R. W. de; MAIA, G. A.; HOLANDA, L. F. F. de; MONTEIRO, J. C. S. Características Físicas e químicas do Jenipapo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 421-428, 1986.

b) FIGUEIREDO, R. W. de; MAIA, G. A.; HOLANDA, L. F. F. de; MONTEIRO, J. C. S. Processamento e estabilidade de néctares de jenipapo submetidos a diferentes métodos de conservação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 21, n. 10, p. 1077-1084, 1986.

FIGUEIREDO, R. W. de; MAIA, G. A.; MONTEIRO, J. C. S.; FIGUEIREDO, E. A. T. de Composição de ácidos graxos na fração lipídica da polpa e sementes do jenipapo (*Genipa americana*, L.). **Boletim do CEPPA**, v. 9, n. 2, p. 149-154, 1991.

FURTADO, M. Indústria de alimentos adere aos corantes naturais. **Revista Química e Derivados**, São Paulo, mar. 2003. Disponível em: <<http://www.quimica.com.br/revista/qd421/corantes1.htm>>. Acesso em: 6 fev. 2006.

GOTTLIEB, O. R.; MORS, W. B. Potential Utilization of Brazilian Wood Extractives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, n. 2, p. 196-215, 1980.

HENRY, B. S. Natural food colours. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J.D. **Natural Food Colorants**. 2. ed. Great Britain: Chapman & Hall, 1996. p. 40-79.

HUNTER: HunterLab User`s Manual. Reston, Virginia. 2000.

KATO, O. R.; OLIVEIRA, V. P. de; FARIA, L. J.G. de. Plantas corantes da Amazônia. In: FARIA, L. J.G. de.; COSTA, C. M. L. **Tópicos Especiais em Tecnologia de Produtos Naturais**. Belém: Universidade Federal do Pará, 1998. cap. 3, 41-55.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. v. 1. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Plantarum, 1998. p. 302.

LOZANO, R. D. La medición psicofísica del color. In: **El color y su medición**. 1 ed. Buenos aires: Américalee S.R.L., 1978. p. 187-204.

MASCARENHAS, J. M. O. **Corantes em Alimentos: Perspectivas, Uso e Restrições**. 1998. 150 f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NAZARÉ, R. F. de. Obtenção e aplicação de corantes naturais. In: FARIA, L. J.G. de.; COSTA, C. M. L. **Tópicos Especiais em Tecnologia de Produtos Naturais**. Belém: Universidade Federal do Pará, 1998. cap. 4, 56-73.

ONO, M.; UENO, M.; MASUOKA, C.; IKEDA, T.; NOHARA, T. Iridoid glucosides from the fruit of *Genipa americana*. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 10, n. 53, p. 1342-4344. 2005.

PENALBER, T. J. de A.; SADALA M. A. C.; CASTRO, M. S.; FARIA, L. J. G. de. Ensaio de extração e aplicação de corantes do fruto do jenipapeiro (*Genipa americana*). **Revista Brasileira de corantes Naturais**, v.2, n. 1, p. 129-135, 1996.

PIMENTEL, F. A. **Avaliação de métodos de obtenção e da estabilidade de pigmentos de sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.)**. 1995. 109 f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PONTES, L. V. **Avaliação sensorial e instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. 2004. 86 f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. de M. Avaliação Objetiva da Cor. In: **Avaliação da Qualidade de Carnes – Fundamentos e Metodologias**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2007. p. 287 – 374.

ROSA, L. C. C. **Corantes Naturais em Alimentos: Preferência do Consumidor e Aplicação Industrial**. 2004. 104 f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SALGADO, S. M. de A. **Estudo da estabilidade da betalaína extraída da beterraba-vermelha de mesa (*Beta vulgaris* L.)**. 1997. 48 f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SAMPAIO-SANTOS, M. I.; KAPLAN, M. A. C. Biosynthesis significance of iridoids in chemosystematics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.12, n.2, p.144-153. 2001.

SANDRI, S. Jenipapo. **Globo Rural**, v.13, n.147, p. 60-63, 1998.

SAS: Statistical Analysis System Users Guide. Haley, North Carolina. 1996.

SEBBENN, A. M. **Estrutura Genética de Subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) a partir de Isoenzimas**. 1997. 107 f. Tese (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SILVA, A. G. **Extração e estabilidade dos carotenóides obtidos de tomate processado (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 2001. 94 f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, A. P. da; LIMA, C. L. C. de; VIEITES, R. L. Caracterização química e física do jenipapo (*Genipa americana*) armazenado. **Scientia Agrícola**, v. 55, n. 1, p. 29-34, 1998.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and human nutrition. **Food Science & Technology**, n. 15, p. 19-38, 2004.

a) TOUYAMA, R.; TAKEDA, Y.; INOUE, K.; KAWAMURA, I.; YATSUZUKA, M.; IKUMOTO, T.; SHINGU, T.; YOKOI, T.; INOUE, H. Studies on the Blue Pigments Produced from Genipin and Methylamine. I. Structures of the Brownish-Red Pigments, Intermediates Leading to the Blue Pigments. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 3, p. 668-673, 1994.

b) TOUYAMA, R.; INOUE, K.; TAKEDA, Y.; YATSUZUKA, M.; IKUMOTO, T.; MORITOME, N.; SHINGU, T.; YOKOI, T.; INOUE, H. Studies on the Blue Pigments Produced from Genipin and Methylamine. II. On the Formation Mechanisms of Brownish-Red Intermediates Leading to the Blue Pigment Formation. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 8, p. 1571-1578, 1994.

UEDA, S.; IWAHASHI, Y. Production of anti-tumor-promoting iridoid glucosides in *Genipa Americana* and its cell cultures. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 6, p. 1677-1680.1991.

XAVIER, M.; XAVIER, A.T.T.N. Jenipapo: uma espécie indígena para reflorestar. **Cerrado**, v.8, n. 34, p. 20-23, 1976.

ZHANG, H.; ZHAN, J.; SU, K.; ZHANG, Y. A kind of potential food additive produced by *Streptomyces coelicolor*: Characteristics of blue pigment and identification of a novel compound,  $\lambda$ -actinorhodin. **Food Chemistry**, n. 95, p. 186–192, 2006.