

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ANTOCIANINAS E SUA INFLUÊNCIA NA VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO DOS EXTRATOS DE FLORES DO OESTE POTIGUAR

S. E. T. Brilhante¹, F. B. de O. NETO², L. A. Alcântara³, L. M. BERTINI⁴

E-mail: estefana_torres@hotmail.com¹, franciscobarros@cristanobrasil.com², leonardo.alcantara@ifrn.edu.br³, luciana.bertini@ifrn.edu.br⁴

RESUMO

As Antocianinas compõem um grupo de compostos no qual, muitas vezes é associado com a coloração de espécies vegetais. Esse grupo encontra-se presente em diversas partes da planta, como caule, flor, fruto, folha, entre outros. Nesse trabalho será investigado o teor de antocianinas dos extratos etanol-água das flores de

buganvília (*Bougainvillea glabra*), espirradeira (*Nerium oleander*), alamanda-amarela (*Allamanda laevis*) e da ixora (*Ixora coccínea*) a partir de teste laboratoriais, tendo como objetivo principal a avaliação desses extratos no que diz respeito à concentração de antocianinas presentes nos mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: Antocianinas, Flores, Extratos vegetais.

ANTHOCYANINS DETERMINATION CONTENT AND ITS INFLUENCE ON THE STAIN OF WEST POTIGUAR FLOWERS EXTRACTS

ABSTRACT

Anthocyanins are a group of compounds usually associated with plant coloring. This group is present in different parts of the plant such as stem, flower, fruit, leaf. In this work we will investigate the anthocyanin content of ethanol-water extracts from bougainvillea

(*Bougainvillea glabra*), oleander (*Nerium oleander*), yellow Alamanda (*Allamanda laevis*) and ixora (*Ixora coccinea*) flowers using laboratory tests, having as main objective the evaluation these extracts with respect to the concentration of anthocyanins present in them.

KEYWORDS: Anthocyanins, Flowers, Plant extracts

1 INTRODUÇÃO

Várias espécies vegetais disponíveis na natureza contendo compostos orgânicos coloridos tais como flavonoides, taninos, carotenoides, entre outros, têm permitido diversos estudos envolvendo trabalhos didáticos e aplicações industriais (BISHOP, 1972).

Em produtos naturais, grande parte das substâncias responsáveis pela coloração pertence à classe dos flavonoides. Dentro dessa classe, as antocianinas apresentam destaque devido sua diversidade e inúmeras atividades. Estas constituem um grupo de pigmentos solúveis em água, dos quais demonstram um elevado potencial no uso como corantes naturais, apresentando diferentes tonalidades de cor, oscilando entre vermelho, laranja e roxo, de acordo com condições intrínsecas, como o pH, temperatura e presença de oxigênio. (BROUILLARD, 1983; MAZZA e MINIATI, 1993).

As antocianinas estão presentes em diferentes órgãos da planta, tais como frutos, flores, caules, folhas e raízes (BROUILLARD, 1982). As funções desempenhadas por esse grupo de metabólitos são bem variadas. Dentre estas, destacam-se: atividade antioxidante, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica (LOPES *et al.*, 2007).

As diferentes funções reportadas pelas antocianinas encontram-se diretamente relacionadas com sua diversidade estrutural (BORDIGNON *et al.*, 2009). Suas moléculas possuem estruturas elaboradas, e são baseadas em um esqueleto policíclico de quinze carbonos, onde os diferentes grupos ligados, "R", caracterizam cada composto de antocianina, como mostra a Figura 1.

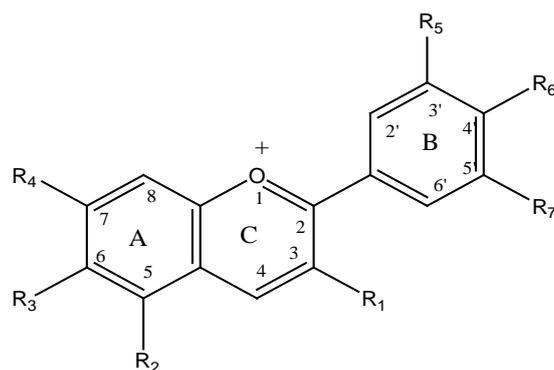


Figura 1: Estrutura química básica das antocianinas (LÓPEZ *et al.*, 2000)

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo principal a avaliação de extratos de flores oriundas do Oeste potiguar no que diz respeito à concentração de antocianinas presentes nos mesmos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As principais classes de pigmentos responsáveis pela coloração de flores, frutos e folhas são denominados de agentes cromóforos, que colaboram na coloração das espécies destacando-se as porfirinas, os carotenoides e os flavonoides (ALKEMA e SEAGER, 1982).

O principal agente cromóforo das flores são os flavonoides (TERCI, 2004). Estes representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal, responsáveis pela maioria dos corantes amarelos, vermelhos e azuis naturais.

Dentre as diversas classes de flavonoides encontradas na natureza encontra-se a classe das antocianinas. Uma das principais propriedades das antocianinas diz respeito a sua diversidade de cores, o que as torna materiais potenciais no uso como indicadores de pH. (MAZZA e MINIATI, 1993; TERCI e ROSSI, 2002).

De acordo com Lopes (2002) as antocianinas podem apresentar diferentes formas estruturais, tais como o cátion flavílio, a base quinoidal ou carbinol e a chalcona, como mostra a figura 2. Essas estruturas podem sofrer influência de diversos fatores, entre estes, temperatura, pH e possíveis ligações com outras substâncias químicas, proporcionando diferentes colorações as antocianinas. (CARDOSO *et al.*, 2011).

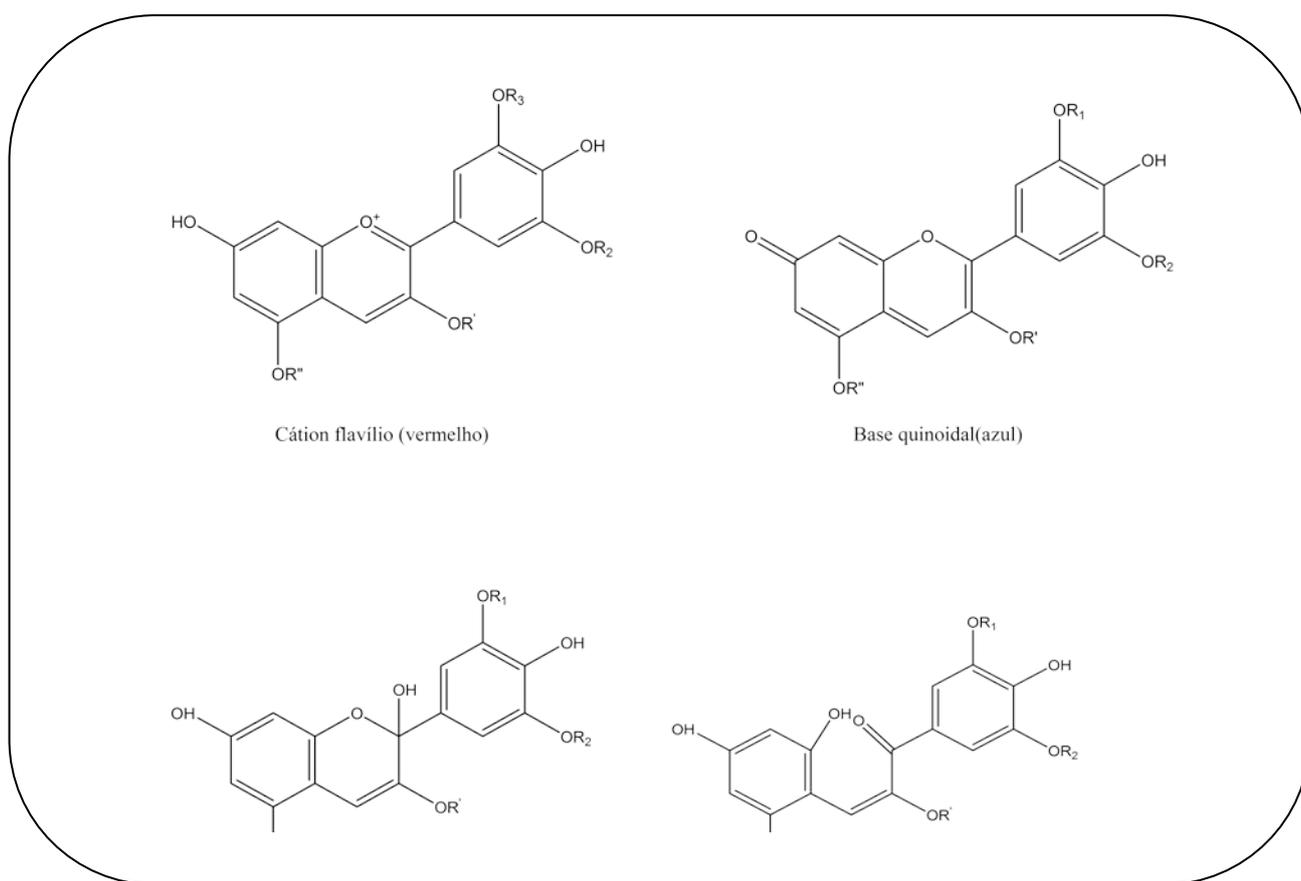


Figura 2: Variação estrutural das antocianinas em função do pH (LOPES, 2002; e CARDOSO, 2011).

A diferença na coloração dos extratos em mesmo valor de pH é devido a associação dos corantes, que é influenciada pelos tipos e quantidades de antocianinas nos extratos (HOSHIRO *et al.* (1981) apud TERCI e ROSSI (2002)). Segundo Terceiro e Rossi (2002) diversos autores têm analisado as características dos indicadores de pH nas antocianinas, visando aplicações no ensino de Química.

Estudos envolvendo as propriedades das antocianinas vêm sendo realizados por diferentes autores. A relação entre a estabilidade das antocianinas com o pH é relatada em trabalhos com pigmentos extraídos do capim gordura (*Melinis minutiflora*) (STRINGHETA, 1991), da uva (*Vitis labrusca*) (FALCÃO *et al.*, 2007), do repolho roxo (*Brassica oleracea*) (XAVIER, 2004) e da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) (LIMA *et al.*, 2011), entre outros.

De acordo com trabalhos citados por Falcão *et al.* (2007), as antocianinas presentes em uvas estão concentradas principalmente na casca, podendo alcançar até 750 mg/100 gramas de fruta madura (MALLACRIDA e MOTTA, 2006) e superior ao teor encontrado no repolho-roxo de 175 mg/100g (LOPES *et al.* (2007)), sendo ambos pigmentos utilizados comercialmente (TEIXEIRA *et al.* 2008).

O principal fator da sensibilidade no processo da utilização das antocianinas é o pH, afetando diretamente a cor e a estabilidade química desta classe de substâncias (LOPES *et al.* 2007). Em soluções ácidas, a antocianina é comumente vermelha, mas com o aumento do pH a intensidade de cor diminui. Em solução alcalina, a cor azul é obtida, porém é instável (MAZZA e BROUILLARD, 1987).

Kimbrough (1992) descreveu procedimentos cromatográficos para a separação de pigmentos vegetais, utilizando materiais comuns encontrados em farmácias e supermercados, como fases móvel e estacionária.

Soares, Cavalheiro e Antunes (2001) realizaram estudo com extratos etanólicos das flores de quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) e azaléia (*Rhododendron simsii*) e do feijão preto (*Phaseolus vulgaris L*) na sua utilização como indicadores do processo de padronização do NaOH usando biftalato de potássio como padrão primário. No trabalho citado, foi possível ainda quantificar a partir de titulação ácido-base o teor de ácido acético em vinagres de vinho tinto, vinho branco e de álcool. Os resultados obtidos mostraram que o uso destes extratos nas avaliações realizadas foi bastante eficaz sendo que, em alguns casos, as variações, quando comparados à fenolftaleína, foram menores que 1%.

3 METODOLOGIA

3.1 Coleta do material botânico

As espécies de flores foram coletadas no Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Rio Grande do Norte câmpus Apodi.

3.2 Extração das antocianinas nas espécies vegetais

A extração dos pigmentos foi realizada de acordo com Teixeira *et al.* (2008). As amostras foram previamente trituradas e pesadas, depois foram adicionados 80 mL de solvente extrator (Etanol-Água (70:30)) e em seguida adicionado HCl suficiente para ajustar o pH do meio para 2,0. O material foi deixado em repouso por 24 horas a 5°C, ao abrigo da luz, para extração.

Após esse período o material foi prensado manualmente com bastão de vidro e filtrado, com a finalidade de reter o resíduo, e o extrato transferido para balão volumétrico de 100 mL, tendo seu volume completado com o solvente extrator, formando o Extrato Concentrado. O conteúdo do balão foi centrifugado a 2000 rpm, por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado. Após a filtração, o extrato foi purificado, extraíndo-se (três extrações sucessivas) o conteúdo de clorofila com auxílio de 100 mL de solvente extrator Éter Etílico : Éter de petróleo (1/1) (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

3.3 Quantificação das Antocianinas

O teor das antocianinas nos extratos vegetais foi quantificado por método espectrofotométrico descrito na literatura. A Absorbância foi avaliada em espectrofotômetro UV marca TEN-KA T-2000, efetuando-se leituras em comprimento de onda de 535 nm. O conteúdo total de antocianinas foi expresso em mg de antocianinas/100g da fração da amostra analisada (pétalas de flores).

O método consiste da transferência quantitativa de uma alíquota (V_{Alq}) do Extrato Concentrado para balão volumétrico de 10 mL, tendo o volume completado com solução Etanol 95% – HCl 1,5N (85/15), formando, dessa maneira, o Extrato Diluído (ED). Os valores de absorbância (DO) foram contrastados com os valores dos brancos (Solução Etanol-HCL 1,5N (85:15)). O cálculo do teor de Antocianinas Totais ($AntT$) por 100 gramas da fração avaliada foi efetuado de acordo com a Equação 1 a seguir.

$$AntT_{(mg/100\ g\ amostra)} = \frac{DO \times V_{E1} \times V_{E2} \times 1000}{V_{alq} \times m \times 982}$$

Equação 1: Equação da quantificação das antocianinas

Onde, DO : Densidade ótica do extrato diluído

V_{E1} : Volume total do extrato concentrado

V_{E2} : Volume total do extrato diluído

V_{alq} : Volume da alíquota utilizado na diluição do extrato concentrado

m : Massa da amostra

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente estudo foram avaliados os teores de antocianinas presentes em diversas flores de vegetais oriundos do município de Apodi-RN e regiões próximas. As espécies utilizadas (buganvília (*Bougainvillea glabra*), espirradeira (*Nerium oleander*), alamanda-amarela (*Allamanda laevis*) e ixora (*Ixora coccínea*)) foram escolhidas devido a forte coloração característica de suas flores como demonstrado nas Figuras 3 – 6, a seguir.



Figura 3: Foto da flor buganvília (*Bougainvillea glabra*)



Figura 4: Foto da flor espirradeira (*Nerium oleander*)



Figura 5: Foto da flor alamanda-amarela (*Allamanda laevis*)



Figura 6: Foto da flor ixora (*Ixora coccínea*)

Após extração das antocianinas presentes nos extratos hidroalcoólicos das flores estudadas utilizando metodologia citada anteriormente foi possível quantificação de seu teor. No método utilizado para análise, denominado método de pH único para quantificação de antocianinas

(Teixeira *et al.*, 2008), verificou-se que as flores buganvília (*Bougainvillea glabra*) e espirradeira (*Nerium oleander*) apresentaram os maiores teores de antocianinas com valores de 1383,3 mg/100g e 1006,6 mg/100g, respectivamente.

A alamanda-amarela (*Allamanda laevis*) apresentou teor de Antocianina próximo ao encontrado na uva (750 mg/100g – MALLACRIDA e MOTTA (2006)) e superior ao teor encontrado na casca fresca do açaí (263 mg/100g – BOBBIO *et al.* (2000) apud LIMA *et al.* (2011)) com um valor de 746,6 mg/100g.

As flores da espécie *Ixora coccínea* (ixora) apresentaram, dentre as flores analisadas, o menor teor de antocianinas, 393,3 mg/100g. O valor obtido, ao ser comparado com valores da literatura, ainda é superior ao teor da pele da jabuticaba o Paulista (383,0 mg/100g – LIMA *et al.* (2011)) e do repolho-roxo (175 mg/100g - LOPES *et al.* (2006)), este último é referência no uso como indicador natural ácido-base devido à sua capacidade de variação de cor (característico das antocianinas) em diferentes pH.

Os valores obtidos nos testes realizados são apresentados na Tabela 1 bem como na Figura 7.

Tabela 1: Teor de Antocianinas Total (mg/100g da amostra)

Amostra	Teor
Buganvília	1383,3 mg/100g
Espirradeira	1006,6 mg/100g
Alamanda-amarela	746,6 mg/100g
Ixora	393,3 mg/100g

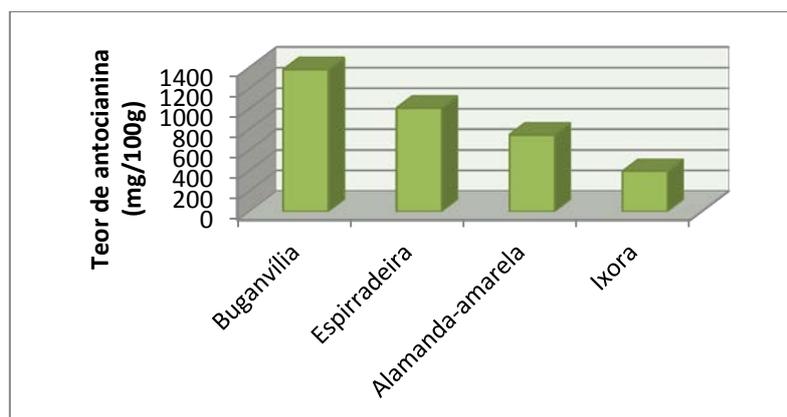


Figura 7: Teor de antocianinas totais em espécies vegetais

Segundo o Macheix *et al.* (1990) apud Teixeira *et al.* (2008) o teor de antocianinas pode ser influenciado por diversos fatores, tais como, o clima, a temperatura e iluminação, que, dessa forma, dificultam a comparação entre diferentes cultivos de uma mesma fruta e flores, uma vez que, os trabalhos realizados são em diversas regiões, épocas climáticas diferentes dentre outros.

5 CONCLUSÃO

Na avaliação dos extratos de flores oriundas do município de Apodi-RN observou-se alto teor de antocianinas totais quando comparadas com valores da literatura. As flores de alamanda-amarela e da ixora apresentaram um bom resultado em relação ao teor de antocianinas. Já a Buganvília e espirradeira pretende-se realizar estudos mais aprofundados, principalmente no que diz respeito ao seu uso como indicador ácido-base devido ao elevado teor encontrado.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKEMA, S.; SEAGER, S.; The chemical pigments of plants. **Journal of Chemical Education**. v. 59, p. 183, 1982.

BISHOP, E. **Indicators**, 1a ed., Pergamon Press: Oxford, 1972.

BORDIGNON JR., C.; FRANCESCATTO, V.; NIENOW, A. A., CALVETE, E.; REGINATTO, F. H.; Influencia do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 183, 2009.

BROUILLARD, R. **Chemical structure of anthocyanins**, 1982. In: MARKAKIS P Anthocyanins as Food Colors. New York, Academic Press. p. 1-39, 1982.

BROUILLARD, R. The in vivo expression of anthocyanins colour in plants. **Phytochemistry**, v. 22, p. 311-323, 1983.

CARDOSO, L. M.; LEITE, J. P. V.; PELUZIO, M. do C. G. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Revista Colombiana de Ciência Químico Farmacêuticas**, v. 40, n. 1, p. 116-138, 2011.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M., FETT, R.; FALCÃO, D. L.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geleia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 637-642, 2007.

LIMA, A. J. B.; CORREA, A. D.; SACZK, A. A.; MARTINS, M. P.; CASTILHO, R. O. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (mart.) O. Berg]. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 877-887, 2011.

LÓPEZ, O.P.; JIMÉNEZ A.R.; VARGAS F.D. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v.40, n.3, p.173-289, 2000.

LOPES, T. J., **Adsorção de antocianinas do repolho roxo em argilas**. 2002, 140f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.3, p. 291-297, 2007.

KIMBROUGH, D. R. Supermarket column Chromatography of leaf pigments. **Journal of Chemical Education**, v. 69, p. 987, 1992.

- MALLACRIDA, C. R.; MOTTA, S. da. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **B. Ceppa**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton, CRC Press. 362p. 1993.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v. 25, p. 207-225, 1987.
- SOARES, M. H. F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; ANTUNES, P. A. Aplicação de Extratos Brutos de Flores de Quaresmeira e Azaléia e da Casca de Feijão Preto em Volumetria Ácido-base. Um Experimento para os Cursos de Análise Quantitativa. **Química Nova**, vol. 24, n. 3, p. 408-422, 2001.
- STRINGHETA, P.C.; **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv.)**. 1991, 138 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.
- TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. de; Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revistas Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.
- TERCI, D. B. L.; ROSSI, A.V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.
- TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 213f, tese (Doutorado em Química e Educação) – Departamento de Química Analítica, Universidade de Campinas, São Paulo, 2004.
- XAVIER, M. F. **Estudo da extração de antocianinas em colunas recheadas**. Florianópolis, 2004, 120 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina. 2004.