

Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal

Stability of Natural Pigments and Dyes

*Schiozer, A. L.;
Barata, L. E. S.

Laboratório de P&D em Produtos Naturais, Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Caixa Postal 6154, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Resumo

Nos últimos anos, consumidores de produtos coloridos aumentaram a rejeição ao uso de corantes artificiais. Ao mesmo tempo, a coloração de alimentos e cosméticos principalmente, utilizando fontes naturais contendo diferentes classes de pigmentos, ganhou importância na indústria. Embora os pigmentos naturais possuam estabilidade inferior se comparados aos pigmentos sintéticos, os naturais conquistam cada ano uma nova fatia do mercado. Problemas de estabilidade como temperatura, oxigênio e luz são fatores que afetam negativamente a qualidade e aparência dos produtos. No entanto, agentes oxidantes e quelantes podem agir como estabilizadores destes compostos naturais. Estudos recentes mostram a degradação destes compostos, focando na decomposição dos mesmos. Adicionalmente, estudos de estabilidade e estabilização de pigmentos naturais estenderam a aplicação dos mesmos. Esta revisão discute fatores de degradação de clorofilas, betalainas, carotenóides e antocianinas, como classes de compostos naturais mais utilizados para colorir, discutindo condições que governam a estabilidade destes pigmentos.

Abstract

In recent years, foodstuffs and cosmetic goods colored with artificial coloring agents have increasingly being disapproved by consumers. At the same time, application of natural coloring agents having different pigment classes in their composition has gained importance for the cosmetics and food industry. Although natural pigments in general present inferior stability compared to synthetic pigments, natural pigments are increasingly conquering larger market shares. Problems with temperature, oxygen and light are known to exhibit detrimental effects on product appearance; nevertheless, certain antioxidants and chelating agents may act as natural compound stabilizers. Only recently, studies expanded the knowledge on degradation of these compounds focusing on decomposition. Additionally, new findings on stability and stabilization of natural pigments extended their application range. The present review discusses factors related to the degradation of chlorophylls, betalains, carotenoids and anthocyanins. These are the most important groups of natural dyeing agents and the main conditions associated with their stability are discussed.

*Correspondência: E-mail:
schiozer@iqm.unicamp.br

Unitermos:
Corantes, Pigmentos Naturais,
Antocianinas, Carotenóides,
Estabilidade

Key Words:
Colorants, Natural Pigments, An-
thocyanins, Carotenoids, Stability



Introdução

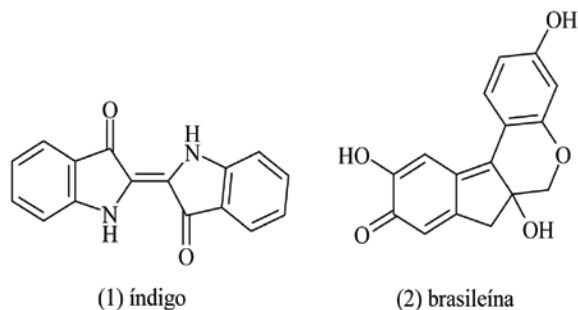
Corante é uma tinta, pigmento, ou outra substância feita por um processo de síntese, ou extraído, isolado, ou derivado de outro modo, com ou sem mudança intermediária ou final de identidade, de um vegetal, animal, mineral ou outra fonte e que, quando adicionado ou aplicado a um alimento, medicamento, ou cosmético ou ao corpo humano, é capaz (sozinho ou através de reação com outra substância) de conferir uma cor a estes (ECFR, 2007).

Corantes Vegetais

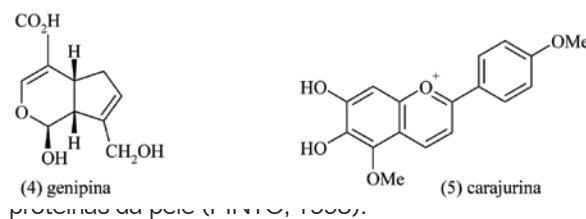
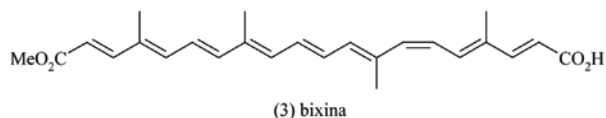
As cores predominantes das plantas resultam de classes de pigmentos do tipo clorofila, carotenóide e flavonóide, enquanto que a contribuição de outros pigmentos oriundos das betalainas, melaninas, dos muitos flavonóides e outros são considerados insignificantes quando considerados globalmente. Pigmentos produzem cores e estão presentes em todos os organismos no mundo, as plantas são os maiores produtores destes pigmentos encontrados nas folhas, frutos, vegetais, flores, assim como em animais, bactérias e fungos.

História dos Corantes Vegetais

Durante o Renascimento, os corantes naturais foram muito utilizados no tingimento de roupas. O corante azul índigo (1), da planta *Indigofera tinctoria* e da *Isatis tinctoria*, um dos mais antigos utilizados pelo homem, foi um produto economicamente importante. Essas plantas possuem um glicosídeo do 3-hidroxiindol (sem cor) e somente quando extraído, hidrolisado, oxidado e dimerizado que o pigmento azul índigo é formado. O índigo obtido desta complexa modificação química é chamado de corante “natural”, e é utilizado como tal por várias indústrias têxteis assim como o sintetizado pela Bayer em 1878. Assim, à luz da química moderna, o limite entre o “natural” e o “sintético” é bastante sutil em alguns casos.



O pau-brasil, *Cesalpinia echinata*, foi um dos primeiros produtos de valor exportado pelo Brasil nos primeiros anos de colonização. A brasilina, ao ser extraído da madeira, sofre oxidação para brasileína (2), sendo esta a matéria corante muito empregada para tingir roupas e utilizada como tinta para escrever desde a Idade Média. Com a descoberta das Américas (1492), surgiram outras fontes de corantes naturais. Nas sociedades indígenas, a pintura corporal sempre teve grande significado. No Brasil, estas pinturas despertaram a atenção dos primeiros brasileiros que aqui chegaram. O urucum (*Bixa orellana*), do qual é extraída a bixina (3); era um destes pigmentos que era utilizado esfregando-se as sementes vermelhas no corpo. Pinturas com urucum datam de tempos remotos até hoje para colorir manteiga, margarina, queijos, doces, entre outros. Algumas tribos utilizavam mistura de jenipapo, (*Genipa americana*) mascado, carvão e água. A coloração do jenipapo é proveniente de um iridóide, a genipina (4), incolor em si, mas que produz cor preta depois de reagir com



Outro exemplo é o pigmento conhecido como “chica red” ou carajura, proveniente da planta *Arrabidaea chica*, utilizado antigamente como cosmético pelos nativos da região do rio Orinoco, Venezuela, foi por muitos anos item de exportação para Europa. Tem como principal composto corante a carajurina (5).

Pigmentos Sintéticos versus Naturais

Pigmentos sintéticos e naturais são usados há décadas em alimentos, fármacos, cosméticos, tingimento de tecidos, mobiliários e outros. Mesmo ainda não sendo disponível um corante natural com as mesmas vantagens tecnológicas e econômicas dos sintéticos, há uma crescente preferência pelos pigmentos obtidos de fontes naturais devido aos seus valores nutritivos e benéficos para a saúde que, de acordo com Francis (1989), se reflete no crescente número de patentes de proces-



tos de produção de pigmentos naturais requeridas nos últimos anos. O mercado de corantes alimentares é em torno de 1,25 bilhões de dólares, dos quais 40% são de corantes sintéticos, 28% de corantes naturais, 20% para corantes idênticos ao natural e 12% de caramelo. Os corantes sintéticos têm crescimento anual de 2 a 5 % enquanto os naturais têm crescimento anual de 5 a 10% (STRINGHETA, 2007). Pode-se afirmar que o potencial de exportação de corantes de origem vegetal do Brasil é alto, haja vista que em 2006 houve uma exportação de 2,45 milhões de dólares (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2006).

O número de pigmentos aprovados para uso em alimentos é limitado, apenas sete (7) corantes sintéticos são aprovados para utilização pelo FDA (*Food and Drug Administration* – Administração de Fármacos e Alimentos dos Estados Unidos) e dezessete (17) pela EC (*European Commission* – Comissão Européia), contra vinte e seis (26) corantes naturais aprovados pelo FDA e treze (13) pela EC (CLYDESDALE, 1993; DOWNHAM; COLLINS, 2000; WISSGOT; BORTLIK, 1996). Algumas limitações dos corantes sintéticos e a proibição de vários corantes vermelhos têm encorajado o desenvolvimento de pigmentos naturais para utilização em alimentos através do descobrimento de novas fontes assim como de produtos modificados. No entanto, os corantes naturais apresentam baixa estabilidade e alto custo quando comparados com os sintéticos. No mundo, 70% das plantas ainda não foram investigadas, e a composição química de apenas 0,5% já foi exaustivamente estudada. Este desafio está direcionado em encontrar não

somente alternativas naturais para corantes sintéticos, como também novas moléculas e novos procedimentos para a produção de pigmentos, por exemplo, de células e/ou tecidos, ou através da engenharia genética. Para atender a constante demanda por novas cores, surgem constantes pesquisas no sentido de melhorar a estabilidade destes pigmentos naturais. Os pigmentos sintéticos são ditos serem significativamente mais estáveis que os pigmentos naturais frente ao calor, oxigênio, pH ou luz. Embora isso não seja verdade para todos os pigmentos e condições, alguns corantes naturais *in vivo* são mais estáveis que os mesmos isolados. Em contraste com a química de corantes, que encontra dificuldades para sintetizar moléculas quimicamente estáveis, as plantas parecem ter desenvolvido outras estratégias para proteger sua cor (WISSGOTT; BORTLIK, 1996). Um maior conhecimento da forma com a qual os corantes existem na natureza deveria ajudar os cientistas a desenvolver formas mais estáveis destes corantes. Um corante natural deve ser estabilizado de uma maneira também natural. Não existe ainda uma definição para “uma maneira natural”, mas parece que tratamentos como aquecimento, extração com solventes brandos, reações com enzimas ou aditivos seriam satisfatórios.

Classificação dos Pigmentos Naturais

Os pigmentos naturais provenientes de plantas podem ser classificados basicamente em 5 grandes classes estruturais de substâncias orgânicas: os tetrapirróis, tetraterpenos, quinonas, O-heterocíclicos e N-heterocíclicos (HENRY, 1996; SCHWARTZ et al., 1981). Na

Tabela 1 - Grupos de Pigmentos Naturais

Grupo	Nome Alternativo	Classes de Pigmentos	Exemplos
tetrapirróis	Porfirina	clorofilas, hemes, biliproteínas	clorofila a (6) clorofila b (7)
tetraterpenos	carotenóides	carotenos, xantofilas	luteína (8) β-caroteno (9) β-criptoxantina (17)
O-heterocíclicos	flavonóides	antocianinas, flavonóis e flavonas	cianidina (10) pelargonidina delfinidina
quinonas	Fenólicos	naftaquinonas, antraquinonas, alo-melaninas e taninos	naftaquinona
N-heterocíclicos	Indigóides e pirimidinas	betalaínas, indigóides, purinas, pteridinas, flavinas	betacianina (11) índigo (1) adenina (14) pterina (15) riboflavina (16)



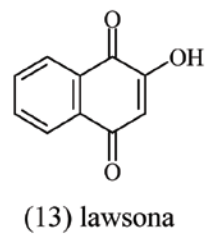
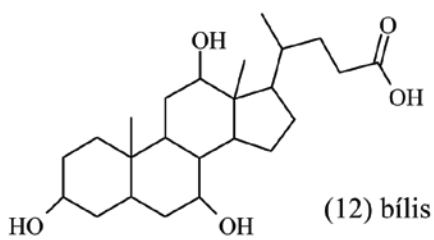
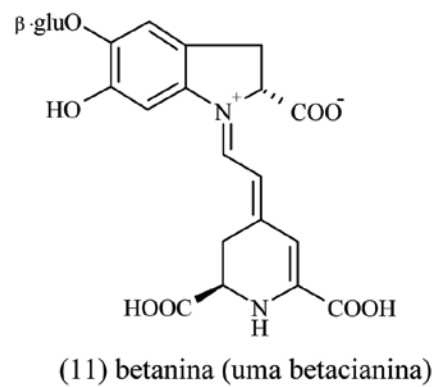
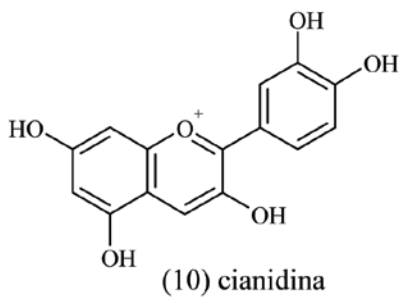
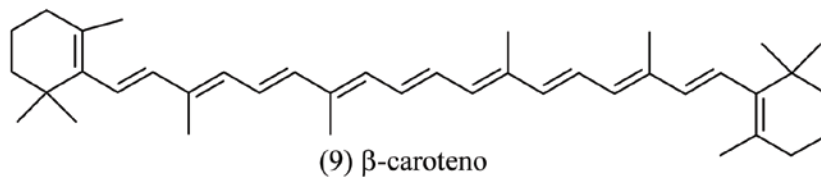
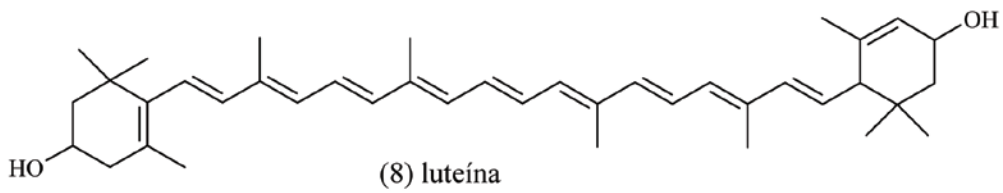
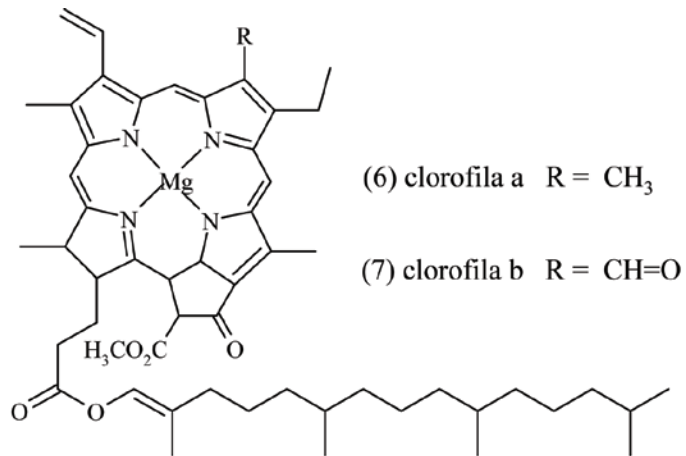




Tabela 1 encontra-se uma lista com estes pigmentos, não sendo aí incluídos aqueles que são raros ou que possuem ocorrências limitadas (HENRY, 1996).

Os derivados tetrapirróis pertencem a um grupo pequeno de pigmentos que possui grande espectro de cores e é o mais abundante na Terra. São compostos que têm, na suas estruturas, anéis de pirrol na forma linear/aberta (12) (pigmentos de bÍlis) ou cÍclica, representada do pelo cromóforo heme (quelado com ferro) da proteína hemoglobina nas hemácias ou a clorofila (6,7), quelada com magnésio, presente nas proteínas nos cloroplastos de plantas. As proteínas com as quais estes pigmentos se ligam alteram as propriedades de solubilidade e estabilidade das moléculas.

Os tetraterpenóides (carotenóides) também estão presentes em abundância na Terra, em plantas e animais. Representa um dos maiores grupos de pigmentos naturais. A estrutura dos carotenóides é a de um terpeno linear de 40 carbonos, como exemplo o β -caroteno (9). Nas plantas, os carotenóides estão associados à clorofila e, pela ingestão desta, participam da cadeia alimentar dos animais. Os compostos O-heterocÍclicos (flavonóides) fazem parte de um grupo enorme e diverso. Dentre eles os mais coloridos são as antocianinas, que contribuem para as cores das flores, frutos e folhas, estão quase sempre ligadas a moléculas de açúcar com um ou mais grupos hidroxila ligados no anel benzênico (10). As quinonas são compostos fenólicos que variam desde derivados monoméricos até complexas formas poliméricas. As quinonas coloridas são encontradas nos troncos das árvores e são geralmente amargas e tóxicas. Historicamente, alguns pigmentos a base de quinona foram utilizados no tingimento de tecidos. Como exemplo, existem as naftaquinonas amarelas, vermelhas e marrons da *Lawsonia alba* que produz o corante cosmético henna, como a lawsona (13). Com respeito às

pirimidinas substituídas, os grupos mais importantes são das purinas e das pterinas, encontradas principalmente em animais e insetos (14,15). As flavinas são também muito importantes, em especial a riboflavina (vitamina B2) (16).

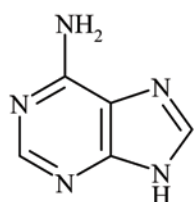
Pesquisadores confrontam-se com vários pontos negativos associados à utilização de corantes naturais para fins comerciais, dentre eles a instabilidade (DOWNHAM; COLLINS, 2000). A seguir são abordados fatores de instabilidade para as clorofilas, betalainas, antocianinas e carotenóides.

Clorofila

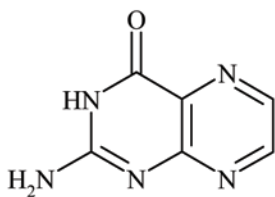
As clorofilas *a* e *b* (6,7) são as porfirinas mais usadas como corante natural. Quando em solução, a clorofila *a* apresenta uma cor azul-esverdeada, enquanto a clorofila *b* apresenta uma cor amarelo-esverdeada. Elas podem ser quantificadas pelos métodos de espectrofotometria, fluorimetria e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As ligações entre as moléculas de clorofila são frágeis (não-covalentes), rompendo-se com facilidade ao macerar o tecido em solventes orgânicos. Os solventes orgânicos mais polares, como acetona, metanol, etanol, acetato de etila, piridina e dimetilformamida são os mais eficazes para a extração completa das clorofilas. Uma das fontes mais usadas para extração das clorofilas é a alfafa (*Medicago sativa*). O processo de secagem das folhas pode ser evitado previamente à extração, pois induz a formação de várias clorofilas degradadas (STREIT et al., 2005).

Estabilidade das clorofilas

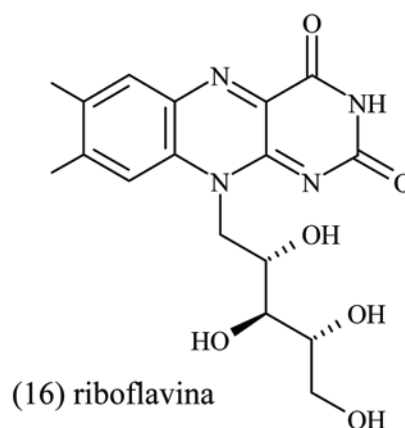
Em geral, as clorofilas são relativamente instáveis e sensíveis à luz, aquecimento, oxigênio e à degradação química (SCHOEFS, 2002). Nas plantas a razão de



(14) adenina (uma purina)



(15) pterina



(16) riboflavina

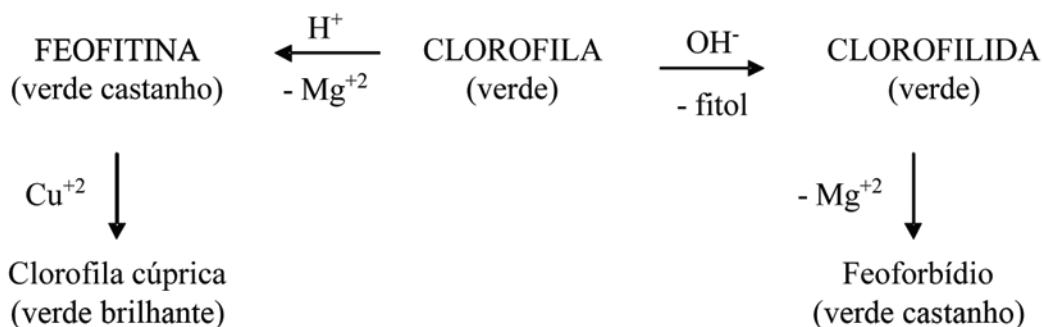




clorofila para carotenóides é de cerca de 5:1, sendo que grande parte é degradada nos primeiros dias de morte do organismo. A degradação da clorofila nos tecidos da planta, ligada a proteína, é bem mais lenta em seu estado natural que isolada. A clorofila *b* é mais estável que *a*, isto se deve ao efeito de atrair elétrons exercido pelo seu grupo aldeído (VON ELBE; SCHWARTZ, 1996). Para atenuar problemas de degradação, as clorofilas podem ser quimicamente modificadas antes de serem incorporadas aos alimentos, substituindo-se o Mg^{+2} pelo íon Cu^{+2} . O derivado contendo esse íon, chamado de clorofila cúprica, é relativamente insensível à luz, devido à estrutura do seu íon, enquanto que o pigmento isolado e purificado de Mg^{+2} é totalmente instável, particularmente na presença de ácidos e luz. Mesmo assim, a clorofila cúprica, tem mercado limitado no Brasil e em outros países por ser considerada não-natural (FURTADO, 2006). Por outro lado, a clorofila cúprica é conhecida como um dos “corantes naturais” mais estáveis, principalmente quando comparada às antocianinas, betalaínas e carotenóides. Ambos os produtos industrializados clorofila-Mg (E140) e clorofila-Cu (E141) são permitidos

abilidade da membrana das células, que entra em equilíbrio com as cargas negativas, diminuindo, dessa forma, a degradação das clorofilas (VON ELBE; SCHWARTZ, 1996). Essa instabilidade da clorofila pode alterar a sua cor e suas qualidades nutritivas e, assim, também no seu valor comercial, acarretando numa impressão negativa do produto. A perda da cor verde vívida da clorofila para uma cor marrom azeitona, durante o armazenamento sob congelamento, é atribuída à formação da feofitina (HEATON et al., 1996). Este fenômeno é conhecido como feofitinação (Figura 1), onde o Mg^{+2} é substituído por H^+ . Outro tipo comum de deterioração é a remoção da cadeia fitol, conduzindo à formação de clorofilida ou feoforbídio. Devido às taxas que levam à reação de feofitinação serem, geralmente, mais elevadas que outras vias de degradação da clorofila, elas são consideradas o mecanismo mais importante de destruição da clorofila durante o processamento de alimentos. Durante o armazenamento sob congelamento, as baixas temperaturas aumentam a tendência de precipitação de proteínas dos alimentos por provocarem a diminuição do pH, ampliando as taxas de reações de catálises ácidas, como a feofitinação

Figura 1 – Esquema de degradação da clorofila



Fonte: BOBBIO; BOBBIO, 1995.

como aditivos de alimentos.

A explicação da aparente instabilidade das porfirinas-Mg é que, em seu estado excitado são fortes agentes redutores e, portanto, rapidamente oxidáveis. Vários intermediários da oxidação da clorofila já foram encontrados, o que sugere que o primeiro ataque oxidativo seja no anel ciclopentanona. Para manter a coloração natural do pigmento, e mantê-lo estável por um certo tempo, faz-se necessário a utilização de pH's maiores que 7, ausência de oxigênio e luz (SHOEFS, 2002). O pH básico torna a clorofila mais estável ao calor, quando comparada ao pH ácido. Os íons positivos minimizam a perme-

(MARTINS E SILVA, 2002).

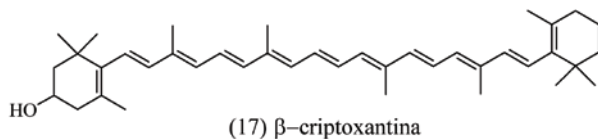
Koca et al. (2006) estudaram a estabilidade das ervilhas frente a alterações de pH. As ervilhas foram primeiramente aferventadas com soluções tampão de pH 5,5, 6,5 e 7,5 a temperaturas de 70, 80 °C, 90 °C e 100 °C. As clorofilas foram extraídas do purê das ervilhas com acetona, e analisadas utilizando-se CLAE, utilizando-se clorofilas *a* e *b* como padrão para identificação e quantificação das mesmas nas amostras. Cálculos da energia de ativação demonstraram que a velocidade de degradação das clorofilas *a* e *b* diminuiu com o aumento do pH. O tempo de meia vida também confirmou esta tendência. Observou-se que a clorofila



a degrada mais rapidamente que a clorofila *b*.

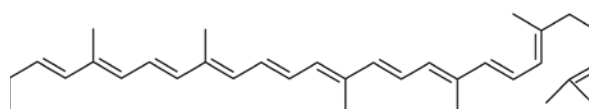
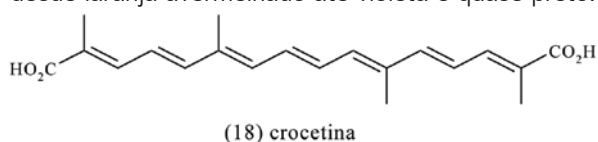
Carotenóides

Os carotenóides têm sido usados como corantes de alimentos há séculos. São conhecidos pela sua cor, pela atividade antioxidante, e por serem precursores de vitamina A, importante substância para a visão (OLSEN, 1989). Sua utilização na indústria de alimentos é considerável em margarinas, manteigas, sucos, bebidas, sopas, dentre outros (KLÄUI, 1979). A principal característica dos carotenóides é possuir um sistema de ligações duplas conjugadas, que corresponde ao cromóforo, e que permite a estes compostos absorverem luz na região do visível, como pode ser observado na estrutura do β -caroteno (9). Os carotenóides são inicialmente divididos em dois grandes



grupos, os carotenos, formados apenas de C e H, e as xantofilas que são derivados oxigenados, que podem apresentar hidroxilas, carbonilas, ácidos carboxílicos ou epóxidos nas suas estruturas. Como exemplo deste último tem-se a β -criptoxantina (17) encontrada na páprica (*Capsicum annuum*).

Como corante, os carotenóides naturais geralmente não são utilizados na forma de pigmentos purificados e sim como materiais secos ou extraídos com solventes, e depois concentrados fornecendo assim um extrato bruto. Nas plantas, os carotenóides são encontrados nos cloroplastos dos tecidos verdes, e sua cor , muitas vezes, mascarada pela presença da clorofila. Os carotenóides mais comuns são o α - e o β -caroteno, lutenas, violaxantinas e neoxantinas. Quando encontrados nas flores e frutos, os carotenóides apresentam cor amarela, laranja e vermelha (HENRY, 1996). Os extratos naturais mais usados industrialmente são provenientes do urucum (*Bixa orellana* – Bixina - 3), cenoura (*Daucus carota* – β -caroteno) (9), óleo de palma (*Elaeisis guineensis* – β -caroteno) (9), açafrão (*Crocus sativus* – crocetina) (18), tomate (*Lycopersicum esculentum* – licopeno) (19) e páprica (*Capsicum annuum* – β -criptoxantina) (17). Os carotenóides cristalizam-se nas formas mais variadas, e sua cor varia desde laranja avermelhado até violeta e quase preto.



(19) licopeno

da temperatura.

O urucum, *Bixa orellana*,  um dos corantes naturais mais utilizados no mundo, e o Brasil um dos maiores produtores e exportadores das suas sementes. Bixina (3)  o carotende majoritário das sementes, perfazendo um mínimo de 80% dos carotendes totais. Foi o primeiro carotende natural identificado a possuir configuração *cis*. Sua estrutura, com 25 carbonos e grupos carboxílicos e éster metlico  muito diferente dos carotendes usualmente presentes em alimentos e foi até o presente momento encontrada somente no urucum.

Os carotendes devem ser extraídos o mais rapidamente possível das plantas, para minimizar a degradação oxidativa e enzimática. Um solvente miscível em água  geralmente usado, como acetona, metanol ou etanol. Em alguns casos a saponificação  recomendada para destruir contaminantes de clorofila e óleos (materiais saponificáveis), podendo ser usado neste caso KOH ou NaOH  temperatura ambiente, no escuro e sob nitrogênio. Cromatografia de coluna, camada delgada (CCD) e CLAE são técnicas bastante usadas para isolamento e caracterização dos extratos. A separação em alumina ou sílica depende da polaridade do composto. Os carotenos são fracamente adsorvidos, enquanto que a adsorção das xantofilas  mais forte, dependendo do grupo funcional que possuem, do arranjo das duplas ligações e do fato de serem cíclicas ou acíclicas. O espectro de absorção dos carotendes possui três máximos, que podem ter seus valores levemente alterados dependendo do solvente utilizado. Fase normal e gradiente de eluição são geralmente utilizados para extratos complexos contendo carotendes de diferentes polaridades, especialmente xantofilas. No entanto, cromatografia de fase-reversa  mais largamente empregada, principalmente por não oferecer risco de decomposição, mesmo para os carotendes mais instáveis (HENRY, 1996).

Estabilidade dos carotendes

Ao mesmo tempo em que o sistema de ligações conjugadas confere cor aos carotendes, tmbm os tornam muito suscetíveis  isomerização e oxidação. Considerando a alta sensibilidade destes





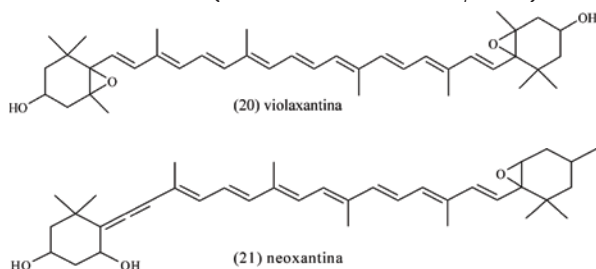
pigmentos frente à luz, calor, oxigênio, ácidos e em alguns casos ao álcali, estas condições devem ser evitadas durante as análises.

Estabilidade dos carotenóides durante análise: uso de antioxidante

Os cristais são muito suscetíveis à degradação enzimática quando os tecidos são rompidos, formando epóxi-carotenóides. Várias precauções devem ser tomadas durante o isolamento e cromatografia como proteção contra luz e oxigênio, baixas temperaturas e uso de antioxidantes, com as análises ocorrendo no tempo mais curto possível. Antioxidantes são muito usados quando as análises são prolongadas. Foi observado (SU et al., 2002) que o uso de 0,1% de BHT como antioxidante reduz a perda de cor substancialmente. Após extração, as amostras devem ser analisadas nas primeiras 24 horas e armazenadas no escuro e frio. Para períodos mais longos as amostras devem ser armazenadas a temperaturas extremamente baixas, perto de -70°C . A exposição à luz induz fotoisomerização trans-cis e fotodestruição dos carotenóides. Portanto, o trabalho experimental com carotenóides deve sempre ser realizado sob iluminação reduzida.

Efeitos de acidez sobre estabilidade dos carotenóides

Quase todos os carotenóides são suscetíveis à decomposição, desidratação ou isomerização se em contato com ácido. Os 5,6-epóxi-carotenóides, como a violaxantina (20) e a neoxantina (21), isomerizam na presença de ácido para o 5,8-epoxi-furanóide. Muitas plantas são suficientemente ácidas para propiciar esta isomerização durante a extração, mas ela pode ser evitada com a inclusão de agentes neutros ou álcalis como o bicarbonato de sódio, carbonato de sódio e carbonato de magnésio durante a extração, a fim de neutralizar a acidez do meio. Adsorventes com características ácidas, especialmente a sílica gel, podem também causar isomerização durante cromatografia, e devem ser evitados; assim como solventes como clorofórmio e diclorometano, que geralmente possuem traços residuais de ácido clorídrico (RODRIGUEZ-AMAYA, 2000).



Estabilidade dos carotenóides durante estocagem

Çinar (2005) e Tang e Chen (2000) estudaram pigmentos de carotenóides liofilizados sob condições diversas de estocagem. Os pigmentos extraídos com enzimas permaneceram em seu estado natural, ligados a proteínas através de ligações covalentes ou interações fracas. Isto previne oxidação do pigmento, enquanto que extrações com solventes dissociam os pigmentos das proteínas, causando insolubilidade na água e facilidade de degradação. Embora a extração por enzimas forneça pigmentos mais estáveis, a estabilidade dos carotenóides durante a estocagem também é um problema importante para tornar o produto final atraente e aceitável. A degradação dos carotenóides não só afeta a cor dos alimentos como também o valor nutricional e o sabor. Vários trabalhos sobre carotenóides relatam a estabilidade desses compostos dentro do vegetal ou fruto durante estocagem na presença ou não de antioxidantes (BIACS e DAOOD, 2000; PERKINS-VEAZIE e COLLINS, 2004).

Estabilidade dos carotenóides em óleos vegetais, margarina e manteiga

O β -caroteno tem uma ótima solubilidade e estabilidade em óleos, por isso tem sido usado como pigmento com muito sucesso em margarinas e manteigas. A influência de vários antioxidantes na retenção da cor dos pigmentos de óleo de amendoim foi estudada e relatada por Kläui (1979). Uma rápida oxidação foi observada quando as amostras foram expostas ao ar. Amostras protegidas do ar, sob nitrogênio foram estabilizadas efetivamente com uma série de antioxidantes, como palmitato de ascorbila e tocoferol, avaliando-se também a influência da temperatura. As degradações das cores dos carotenóides são intensificadas pela presença de luz e calor e os resultados baseiam-se na hipótese de que os carotenos são descoloridos pela remoção de hidrogênio e isso abala toda a estrutura do cromóforo, dando origem a radicais peróxidos livres bastante instáveis.

Estabilidade dos carotenóides em cenoura

O suco de cenoura contém grande quantidade de α - e β -caroteno. Chen e Tang (1998) estudaram a estabilidade destes carotenóides após processo de secagem *spray-drying* e encontraram que a quantidade de carotenóides diminui com o tempo e temperatura. Em outro trabalho, Tang e Chen



(2000) avaliaram a estabilidade da mesma polpa de cenoura após liofilização e durante estocagem. A estabilidade durante estocagem do pó liofilizado foi realizada com utilização de nitrogênio e temperaturas de 4 °C, 25 °C e 45 °C no escuro, e a 25 °C exposto à luz por 12 semanas. A mudança de cor durante a estocagem foi estudada utilizando-se um *color difference meter*, para determinar os valores de Hunter L, *a* e *b*. L avalia o brilho do pó, enquanto que *a* remete ao vermelho e *b* ao amarelo. A constante de degradação da amostra foi calculada utilizando-se a forma abaixo:

$$K = -\ln (CA/CA_0)/t$$

onde CA é a concentração da luteína, α - e β -caroteno depois da estocagem, CA₀ a concentração inicial e t o tempo de estocagem. Os resultados estão resumidos na Tabela 2. O β -caroteno é mais suscetível à degradação que o α -caroteno, provavelmente porque o primeiro tem mais ligações duplas conjugadas. A luteína degrada menos ainda, o que pode ser atribuído à formação do complexo luteína-gelatina. Os resultados mostraram que em temperaturas mais baixas, a taxa de degradação total é menor assim como a formação de compostos *cis*, o que é bastante positivo já que a formação destes compostos diminui a intensidade da cor e da atividade da provitamina A. Os valores de L e *b* diminuíram substancialmente com aumento da temperatura e presença de luz, já a teve apenas uma pequena alteração.

Betalainas

As betalainas são pigmentos nitrogenados coloridos e hidrossolúveis. Dão origem à pigmentação vermelho-escura da beterraba (*Beta vulgaris*) e ao vermelho-rubro da flor *Amaranthus* dentre outros. As betalainas estão também relacionadas com o pigmento animal da melanina, as eumelaninas, que tem como função principal proteger a pele humana dos raios ultravioletas. Estão presentes em flores, frutos, raízes e folhas. As betalainas são encontra-

das em apenas dez famílias de cariofilales (Angiospermas), como exemplo a beterraba, e em algumas espécies de fungos e frutos de cactus. São pigmentos que incluem as betacianinas vermelhas e as betaxantinas amarelas. Semelhante às antocianinas, as betalainas representam papel importante na reprodução das plantas, no entanto seu papel nas raízes, folhas e galhos ainda é um pouco obscuro. Surpreendentemente nunca são encontradas em conjunto com as antocianinas. As betalainas são derivadas de ácido betalâmico (24).

A betaxantina mais comum é aquela encontrada na beterraba, vulgaxantina (25), enquanto que a betacianina que tem sido mais estudada é a betanina (22), betalaina mais abundante na beterraba (HERBACH et al., 2006). Todas as betacianinas são glicosiladas. Muitos trabalhos já foram publicados sobre a estabilidade das betacianinas, e um número bem mais resumido em betaxantinas.

A betalaina tem várias aplicações em alimentos, sendo a beterraba (*Beta vulgaris*) a fonte mais usada. A quantidade do pigmento puro em alguns alimentos para obtenção da cor desejada é baixa, quando comparada com outros pigmentos naturais, cerca de 50 ppm, calculado em termos de betacianinas. Existem no mercado alguns preparados comerciais em pó que contam com um rendimento de cerca de 60%, dos quais entre 0,3% a 1% representam o pigmento; sendo o restante, açúcares e proteínas. A utilização de fungos para auxiliar na fermentação é bastante praticada, pois o processo extrai uma boa quantidade de açúcares, enriquecendo a cor do extrato (REYNOSO et al., 1997). Existe uma similaridade grande entre extratos contendo betalainas e antocianinas. No entanto, alguns testes preliminares podem ajudar a distingui-las, o mais simples desses utiliza a referência da variação de cor de cada uma delas na escala de pH.

Os solventes mais usados para extração são a água, etanol ou metanol (20 a 50% v/v), principal-

Tabela 2 – Velocidade de degradação para os compostos no pó liofilizado da cenoura

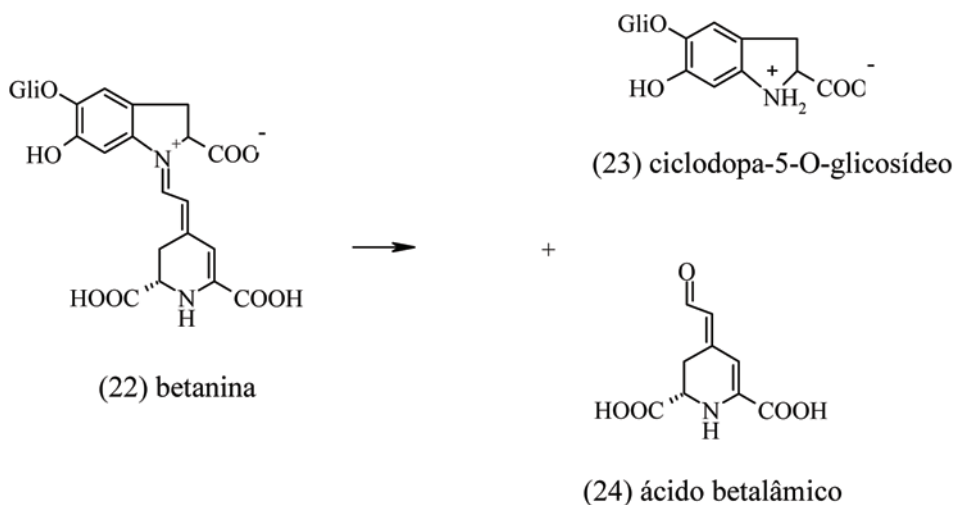
T / condição	Constante de degradação (dia ⁻¹)		
	luteína	α -caroteno	β -caroteno
4 °C / escuro	0,004	0,013	0,015
25 °C / escuro	0,006	0,020	0,024
45 °C / escuro	0,009	0,032	0,037
25 °C / luz	0,013	0,039	0,043

Fonte: TANG; CHEN (2000)



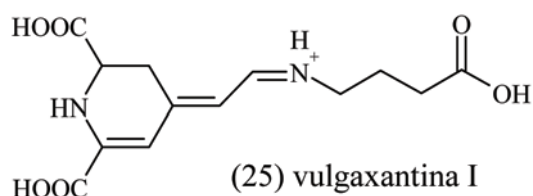


Figura 2 – Degradação da betanina



mente os dois últimos quando se pretende obter uma extração mais completa. É comum realizar fermentação dos extratos para reduzir os açúcares e aumentar a quantidade de betacianina. As betacianinas precipitam em meio ácido, e resultam nas betaxantinas, mediante adição de solução etanólica 95% (DELGADO-VARGAS et al., 2000). CLAE é o método cromatográfico mais usado para separação, quantificação e eventual identificação das betalainas. Os sistemas mais comumente usados são água:metanol ou água:acetona acidificados com ácido acético, fórmico ou fosfórico.

Estabilidade das betalainas



A instabilidade da cor das betalainas representa um obstáculo para o uso industrial. A sua estabilidade é fortemente influenciada pela presença de luz, oxigênio, atividade da água, variação de pH e temperatura (REYNOSO et al., 1997). Esta instabilidade restringe o uso das betalainas como corantes de alimentos, e são mais indicadas para alimentos secos em pó ou refrigerados (JACKMAN e SMITH, 1996). Como as betalainas possuem altos coeficientes molares de extinção, seu poder de tingimento é competitivo com corantes sintéticos

(STINTZING et al., 2003). A degradação térmica da betalaína geralmente segue uma cinética de primeira ordem entre pH 3 e 7. Em termos de tempo de meia vida, a estabilidade das betalainas é maior entre pH 5 e 6 e presença de oxigênio; e entre pH 4 e 5 na ausência de oxigênio.

Instabilidade das betaninas, principal betacianina encontrada em alimentos, versus betaxantinas

Geralmente as soluções vermelhas contendo betaninas são relativamente estáveis de pH 3 a 7, com absorção máxima no comprimento de onda ($\lambda_{\text{máx}}$) entre 537 e 538 nm. Abaixo de pH 3, a cor muda para violeta, e o $\lambda_{\text{máx}}$ muda para entre 534-536 nm, com diminuição da intensidade, é sendo também observado um pequeno aumento da absorção entre 570 e 640 nm. Acima de pH 7, soluções de betaninas tornam-se azuladas, devido a um deslocamento batocromico no comprimento de onda de máxima absorção. O efeito azul mais intenso ocorre em pH 9, $\lambda_{\text{máx}}$ entre 543 e 544 nm. Acima de pH 10 diminui a intensidade da cor, já que $\lambda_{\text{máx}}$ de 540 a 550 nm é acompanhado por um aumento da absorção entre 400 e 460 nm devido à liberação de ácido betalâmico, que é amarelo. Já para as betaxantinas o $\lambda_{\text{máx}}$ está entre 475 e 477,5, abaixo de pH 3,5 $\lambda_{\text{máx}}$ desloca para a esquerda enquanto que acima de pH 7 o $\lambda_{\text{máx}}$ desloca para a direita. Fora da faixa pH 3,5 a 7, a intensidade do espectro diminui (DELGADO-VARGAS et al., 2000). Reynoso et al. (1997), estudaram a flor de um cacto chamado de garambulo proveniente do deserto do México. O estudo de estabilidade ocorreu com extratos de betalainas ex-

traídas das frutas do cacto e da beterraba a pH 4, 5 e 6 e temperatura ambiente por 5 dias. Depois de 5 dias em estabilidade, o extrato de beterraba teve uma queda bastante brusca de cor enquanto que o garmbulu teve uma perda de no máximo 7%; um resultado que se deve provavelmente à presença das betaxantinas da beterraba, conhecida por trabalhos anteriores por ser mais suscetível à degradação que a betanina.

A betanina pura degrada a uma velocidade maior do que quando comparada com sucos (beterraba, por exemplo), sugerindo um efeito protetor de outros substituintes no sistema natural (exemplo: polifenóis, antioxidantes, etc.) assim como ácido betalâmico (24). O primeiro passo da degradação da betanina por temperatura e/ou pH, acredita-se que seja por ataque nucleofílico. A reação é, no entanto, reversível, sendo mais favorável num pH onde a betanina é mais estável e a temperaturas baixas. O ácido betalâmico (24) é sensível a altas temperaturas, e pode precipitar, tornando-se indisponível para a reação de regeneração. Analogamente o produto ciclodopa-5-O-glicosídeo (23) pode sofrer reações de oxidação e iniciar polimerização com outros compostos. Portanto, se a temperatura aumenta, particularmente na presença de oxigênio, ocorre uma degradação irreversível da betanina (Figura 2).

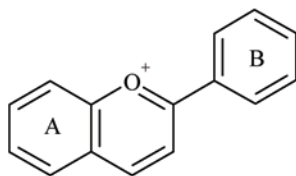
Antocianinas

As antocianinas são moléculas pertencentes a uma subclasse dos flavonóides, a dos polifenóis. Elas são responsáveis pelas cores atrativas vermelhas, roxas e azuis de muitas flores, frutos e folhas. As antocianinas têm o esqueleto $C_6-C_3-C_6$ típico dos flavonóides, são moléculas geralmente glicosiladas do cátion flavílico (26) (BROUILLARD, 1982; HAR-

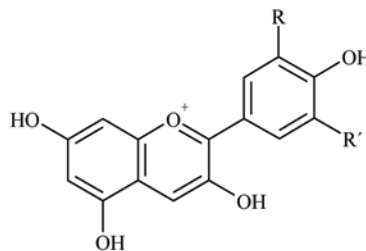
BOURNE, 1964) e absorvem luz em torno de 500 nm tornando os pigmentos vermelhos. As agliconas diferem entre si pelo número de grupos hidroxila e metoxila no anel B do cátion flavílico. São conhecidas em torno de 22 antocianidinas, mas apenas 6 (cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina e petunidina) são importantes em alimentos (FRANCIS, 2000).

Potencial corante

As antocianinas, que são flavonóides presentes em vinhos, frutas vermelhas e outros, têm sido usadas na coloração de alguns produtos. Devido sua variação de cor com o pH, a preferência do seu uso se restringe a produtos ácidos. Como exemplo, tem-se que as cascas de uva preta que produzem uma antocianina vermelha a pH menor que dois, mas incolor ou amarela no pH da uva. No entanto, devido às cores variadas destes flavonóides na natureza (branco, amarelo, vermelho, azul e preto), dentre os corantes hidrossolúveis, eles apresentam um potencial colorante considerável (FRANCIS, 1982; TIMBERLAKE; BRIDLE, 1980). Apesar de largamente disseminadas na natureza, são poucas as fontes comercialmente utilizáveis de antocianinas. Entre essas fontes pode-se citar o resíduo da fabricação do vinho e do suco de uva, que produz o pigmento usado em alimentos com o nome de enocianina, empregado com certa frequência devido à sua cor vermelho-púrpura, pois oferece como vantagem um baixo custo, já que sua matéria-prima é constituída de subprodutos industriais (BOBBIO; BOBBIO, 1995). As antocianinas apresentam dois problemas importantes e que necessitam de melhor estudo: a falta de fontes economicamente viáveis e baixa estabilidade à luz e pH (FRANCIS,



(26) cátio flavílico



Antocianidina	Estrutura	R	R'
cianidina	(27)	OH	H
delfinidina	(28)	OH	OH
malvidina	(29)	OCH ₃	OCH ₃
pelargonidina	(30)	H	H
peonidina	(31)	OCH ₃	H
petunidina	(32)	OCH ₃	OH



1982; MOK; HETTIARCHY, 1991).

Antocianinas e atividade antioxidante

As antocianinas são conhecidas também pelas suas propriedades antioxidantes, anticarcinogênica e antiinflamatórias (KONG et al., 2003). Tanto as antocianinas como alguns outros polifenóis, têm sido procurados para utilização em alimentos e bebidas devido à comprovada atividade antioxidante (PALOMINO et al., 2000). De acordo com Stanton (1999), há uma tendência mundial em incluir vinhos na dieta, especialmente os tintos, bem como outras bebidas não alcoólicas com conotação saudável, portanto a procura por alimentos e bebidas coloridas com antocianinas certamente acompanhará essa tendência. As antocianinas podem melhorar o valor nutricional dos alimentos processados prevenindo a oxidação dos lipídeos e proteínas (VILJANEN et al., 2004). Neste caso seu uso é muito mais importante que quando usada para melhorar a qualidade das cores dos alimentos.

Extração, separação e identificação

Antocianinas são solúveis em solventes polares, e são geralmente extraídas das plantas utilizando-se metanol acidificado com ácido clorídrico ou ácido fórmico. O ácido abaixa o valor do pH da solução e previne a degradação dos pigmentos de antocianinas não aciladas. No entanto, muito cuidado deve ser tomado com a evaporação do solvente após extração, pois a degradação do pigmento pode acontecer ou mesmo hidrólise parcial ou total. A acetona também pode ser usada, contudo é menos relatada do que a extração metanólica (GARCIA-VIGUERA et al., 1999; GIUSTI et al., 1999). Para purificação dos extratos brutos, pode ser utilizada extração em fase sólida com cartuchos C-18, Sephadex, ou ainda Amberlite XAD-7. Durante a purificação, as antocianinas ficam aderidas fortemente ao adsorvente pelos grupos hidroxila, e são separadas de outros compostos utilizando solventes de polaridade crescente. Para identificação das antocianinas, utiliza-se com frequência CLAE, seguido de ressonância magnética nuclear (RMN) e/ou espectrometria de massas (EM) (ZANATTA, 2004), ou ainda uma combinação destas técnicas. Outras técnicas também foram utilizadas como a eletroforese capilar, que possui alta resolução, baixo consumo de amostra e solvente e alta sensibilidade (COSTA et al., 2000). A técnica de HSCCC (cromatografia de contracorrente de alta velocidade) foi também

utilizada em vários trabalhos recentes, e tem como vantagem principal, possuir uma fase estacionária líquida, não havendo problemas de adsorção do soluto e, adicionalmente, utiliza menos solventes que CLAE, com fácil possibilidade de aumento de escala (*scale up*) (DEGENHARDT et al., 2000; EICHHORN; WINTERHALTER, 2005).

Estabilidade das antocianinas

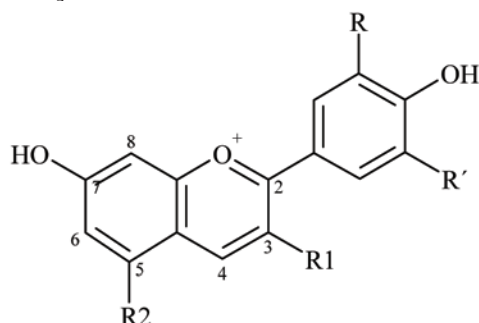
O processamento e fabricação de produtos derivados de antocianinas favorecem a deterioração das antocianinas e da sua cor. Durante a estocagem, a cor dos produtos degrada ainda mais (GIMENEZ et al., 2001). Tratamento com enzimas, como peptinases, aumenta o conteúdo de antocianinas e intensifica a cor dos produtos. As antocianinas são moléculas bastante instáveis. A estabilidade da sua cor é afetada fortemente pelo pH, solventes, temperatura, concentração e estrutura das antocianinas, bem como pela presença de oxigênio, luz, enzimas, e outras substâncias contidas na planta.

Influência da estrutura e dos substituintes químicos na estabilidade das antocianinas

As unidades glicosila e os grupos acila, hidroxila e metoxila encontrados nas antocianinas têm um efeito significativo sobre a estabilidade e reatividade dessas últimas. O aumento do número das hidroxilas estabiliza as agliconas (antocianidinas) (DAO et al., 1998), e o aumento da metilação dos grupos hidroxila diminui a estabilidade das antocianinas (MAZZA; BROUILLARD, 1987), no entanto existem inconsistências, como relatam Cabrita et al. (2000). As posições dos grupos metoxila e hidroxila também afetam a cor. Com o aumento do número de grupos hidroxila, a cor muda de rosa para azul. Modificações químicas também são possíveis, como a síntese de 3-deoxiantocianinas, para aumentar a estabilidade (DAO et al., 1998), no entanto isso torna as antocianinas, antes vermelhas, em amarelas (MAZZA; BROUILLARD, 1987). Antocianidina é a forma aglicona que é menos solúvel e menos estável em água que a forma glicosilada (antocianina), por isso a forma glicosilada é bem mais facilmente encontrada na natureza por ser mais estável (TIMBERLAKE; BRIDLE, 1966). A posição e o tipo de grupo glicosila também influenciam na estabilidade. Um estudo mostra que este grupo na posição C-3 produz a antocianina mais estável. As antocianinas 3-glicosídeos são mais coloridas que as 3,5 ou 5-glicosídeos (33), e o aumento das

unidades de glicose torna os pigmentos mais amarelos (GIUSTI et al., 1999).

A acilação também aumenta a estabilidade das



(33) antocianina

R1 = O-Gli / OH

R2 = O-Gli / OH

R e R' = OH, H ou OCH₃

antocianinas assim como as poli-aciladas são mais estáveis que as monoaciladas. Os substituintes acila aromáticos são mais estáveis que os alifáticos (STINTZING et al., 2003). O aumento da concentração das antocianinas também promove uma maior estabilidade da cor através de auto-associação (GIUSTI; WROLSTAD, 2003).

Influência do pH nas moléculas de antocianinas

As antocianinas são conhecidas por apresentarem uma grande variedade de cores na escala de pH de 1 a 14, no entanto, são mais estáveis em meio ácido que em soluções alcalinas. A natureza iônica das antocianinas favorece a mudança na estrutura da molécula de acordo com o pH, resultando em cores diferentes para diferentes valores de pH (BROUILLARD, 1982; TERCI; ROSSI, 2002). Em soluções aquosas ácidas, as antocianinas existem como quatro espécies em equilíbrio: a base quinoidal A, o cátion flavílico AH⁺, a carbinol ou pseudobase B e a chalcona C (Figura 3). Num meio bastante ácido (pH < 2) o cátion flavílico vermelho é a única espécie predominante em equilíbrio. O aumento do pH resulta numa diminuição da intensidade da cor e da concentração do cátion flavílico, devido à hidratação pelo ataque nucleofílico da água, formando o carbinol, incolor.

A forma carbinólica não absorve luz visível pelo fato dessa última não possuir o sistema extenso de ligações duplas conjugadas presentes no

cátion flavílico AH⁺ (BROUILLARD, 1982). Uma rápida perda do próton do cátion flavílico acontece com aumento do pH levando à formação da forma quinoidal, colorida. Quando o pH aumenta ainda mais, a forma carbinólica se transforma na chalcona incolor através da abertura do anel heterocíclico. A quantidade relativa de cada forma em equilíbrio varia com o pH e com a estrutura de cada antocianina (MAZZA; BROUILLARD, 1987). A Figura 4 mostra a distribuição das quatro espécies em equilíbrio da malvidina 3-glicosídeo. Em pH entre 4 e 5,5 predomina o carbinol incolor e a chalcona amarelada, por isso a solução é quase sem cor. A base quinoidal é a única espécie colorida existente em pH > 5, mas existe numa quantidade muito pequena que não chega a afetar a cor da solução. A intensidade da cor das antocianinas em soluções alcalinas aumenta até pH 10, no entanto possui características de cor e de $\lambda_{\text{máx}}$ diferentes das soluções com pH próximo a 1 (REIN; HEINONEN, 2004). A perda da cor das antocianinas é dependente do pH pelo equilíbrio das suas quatro estruturas da antocianina, das quais o cátion flavílico é a mais estável e a mais colorida. A cor da solução alcalina pode ser convertida de volta para a forma colorida do cátion flavílico, no entanto, se o pH for muito alto, onde as formas das chalconas instáveis já tiverem sido formadas, a recuperação da cor não pode ser mais alcançada. A Figura 4 mostra a influência do pH para as antocianinas.

Influência da temperatura na degradação das antocianinas

A temperatura é outro fator de grande influência na estabilidade das antocianinas. A taxa de degradação das antocianinas aumenta durante seu manuseio e estocagem conforme a temperatura aumentar. O aumento da temperatura em pH entre 2 e 4 induz a perda de radicais glicosila através da hidrólise da ligação glicosídica, o que induz a perda de cor. A degradação térmica das antocianinas segue cinética de primeira ordem (AHMED et al., 2004). A Figura 5 mostra alguns caminhos para a degradação das antocianinas (HENRY, 1996).

As enzimas de degradação mais comuns das antocianinas são as glicosidases, que quebram a ligação do radical glicosil da antocianina, resultando na degradação e formação da altamente instável antocianidina correspondente. As enzimas oxidam primeiro outros compostos fenólicos no meio para as formas quinônicas correspondentes, que depois



Figura 3 – As quatro formas em equilíbrio de uma antocianidina em meio aquoso

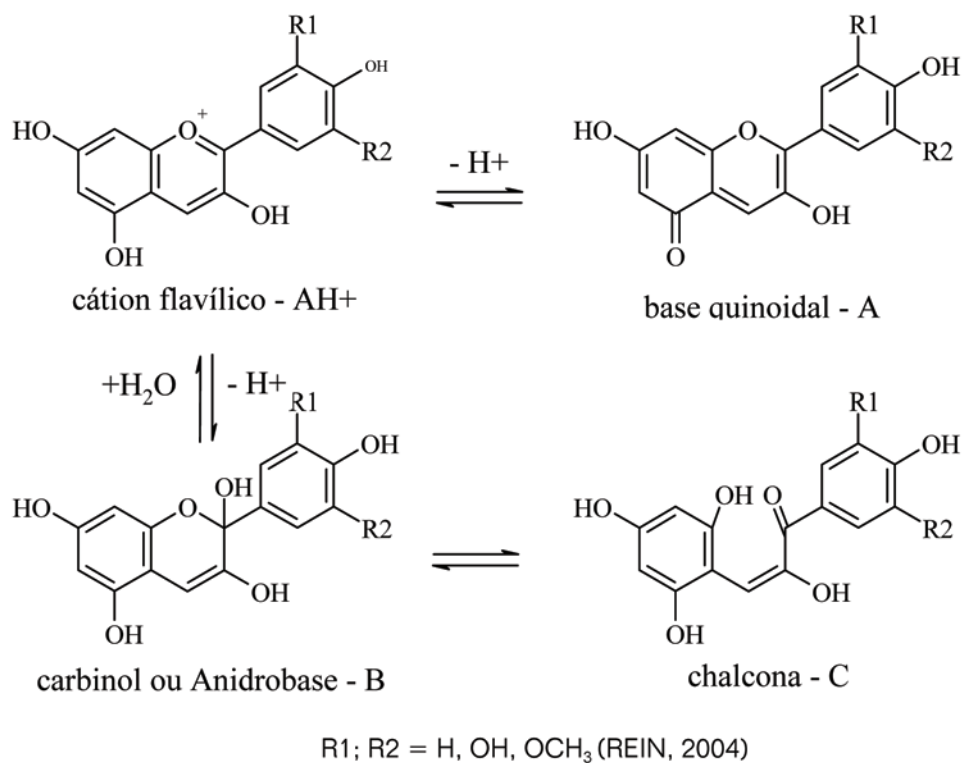
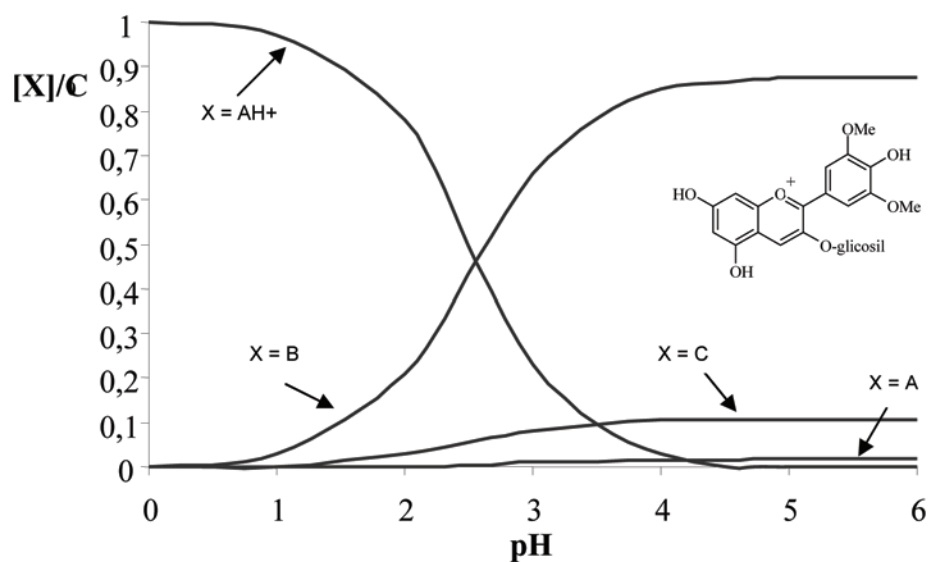


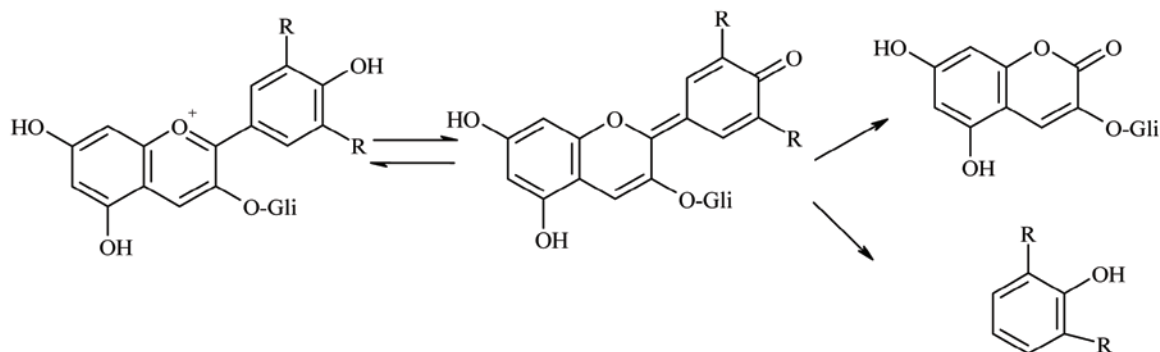
Figura 4 – Distribuição das diferentes estruturas em equilíbrio da malvidina 3-glicosídeo com pH



AH⁺ = cátion flavílico; A = base quinoidal; B = carbinol or anidrobases; C = chalcona; C₀ = concentração inicial (Fonte: BROUILARD, 1982)



Figura 5 – Degradação das antocianinas a pH 3,7 aceleradas por aquecimento



reagem com as antocianinas, resultando na degradação dessas últimas e conduzindo a produtos de condensação de cor marrom (KADER et al., 1999). A utilização de ácido ascórbico protege contra oxidação, assim como aumenta o valor nutricional do alimento. Ele protege as antocianinas de degradação enzimática e aumenta a estabilidade das antocianinas aciladas. Por outro lado, o ácido ascórbico acelera a decomposição das antocianinas (TALCOTT et al., 2003).

Copigmentação

A estabilidade das antocianinas pode ser melhorada através da copigmentação, onde antocianinas reagem com outro composto natural da planta, diretamente ou através de interações fracas, resultando numa melhoria da estabilidade da cor (TALCOTT et al., 2003). A copigmentação intensifica as cores tornando-as mais brilhantes, fortes e estáveis que a própria antocianina na ausência do co-pigmento. A copigmentação já foi estudada por vários autores, dentre eles Brouillard (1983) e Rein e Heinonen (2004). As antocianinas, supostamente, não deveriam ter cor nas plantas considerando que na planta prevalece um pH levemente ácido. Como as antocianinas são coloridas na natureza, a sua cor intensa deve ser estabilizada fortemente por outros compostos naturais existentes nas plantas, a priori um exemplo da copigmentação tratada acima (BROUILLARD, 1982). Já foi observado que a copigmentação é mais intensa em sucos de frutas que em substâncias purificadas. Isso é tido com evidência para a presença de vários compostos contidos no suco com efeito de copigmentação e não somente um copigmento isoladamente. A copigmentação pode ocorrer através de várias interações, cujos mecanismos mais importantes incluem o inter e o intramolecular. O fenômeno da copigmentação pode ser observado como um deslocamento batocrômico para um comprimento de onda maior, no espectro de IV, tam-

bém chamado de efeito azulado já que a cor muda de vermelho para azul, ou como um efeito hiperacrômico, quando a intensidade da cor é intensificada. As reações de copigmentação são fortemente influenciadas pelo pH, concentração, solvente e estruturas moleculares. A intensidade da cor aumenta linearmente com a adição do copigmento. O aumento da temperatura inibe o fenômeno da copigmentação, a pHs bastante baixos, as reações de copigmentação são bem mais fracas que em pH entre 2 e 5, onde a forma de equilíbrio quinoidal existe. A estrutura da água favorece a associação desta com o pigmento, enquanto que metanol reduz o efeito da copigmentação. Exemplos de copigmentos são os ácidos orgânicos, que podem se ligar às antocianinas através de ligações de éster. Estes são ácidos fenólicos ou ácidos dicarboxilifáticos ou uma combinação dos dois. Os ácidos fenólicos mais comuns presentes junto com as antocianinas são os derivados de ácidos hidroxicinâmicos, por exemplo: ácido ferúlico, ácido cafêico, sinápico e gálico. Os ácidos alifáticos mais comuns são melônico, acético, málico, succínico e oxálico (CABRITA et al., 2000).

Embora tenham sido realizados muitos avanços na área de corantes nas últimas décadas com respeito à legislação e avanços tecnológicos, existe ainda espaço para futuras pesquisas. O mercado de corantes tende a crescer e mudar na medida em que o mercado de alimentos processados crescer. O mercado de corantes naturais muito provavelmente crescerá numa velocidade maior que os sintéticos, devido à pressão dos consumidores para o "natural" (DELGADO-VARGAS et al., 2000). Muitos avanços surgiram na última década na área de estabilidade dos pigmentos permitindo o uso de novas tonalidades e cores. No entanto, obtenção de corantes vermelhos estáveis a calor e ácido, assim como alternativas para a tonalidade azul não dependente de pH, ainda são os maiores desafios. Do ponto de vista tecnológico, as antocianinas e as betalainas se complementam fornecendo corantes





amarelos, laranjas, vermelhos e roxos. Enquanto as primeiras perdem seu poder tintorial a partir de pH 2 ou 3, as últimas são quimicamente estáveis na faixa de pH 3 a 7 (HENRY, 1996).

Não existem muitas estatísticas confiáveis disponíveis na literatura para o mercado de corantes. Estima-se que seja da ordem de 1 bilhão de dólares e que pode ser dividido em 42% para sintéticos, 27% para corantes naturais, 20% para idênticos aos naturais, e 11% para caramelos (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Entende-se por idênticos aos da natureza os pigmentos sintetizados apresentando estruturas idênticas às da natureza e por caramelos os carboidratos complexos, resultantes do aquecimento controlado de sacarose, glicose e frutose. O segmento que mais cresceu nos últimos anos foi o natural, devido a pressões dos consumidores, a mudanças sociais e a avanços tecnológicos, ressaltando os avanços nas pesquisas de estabilidades dos pigmentos e a necessidade da indústria de alimentos de atender a percepção dos consumidores de que “natural é melhor”.

Estima-se que no mundo 70% de todas as plantas ainda não foram totalmente investigadas e que somente 0,5% foram estudadas exaustivamente (WISGOTT; BORTLIK, 1996). Conclui-se com isso que as pesquisas com corantes naturais estão apenas começando. A produção de pigmentos naturais através de cultura de células de plantas tem sido considerada nos últimos anos. Pigmentos obtidos de cultura de células possuem os mesmos problemas de instabilidade que os isolados das plantas. A microencapsulação é uma área de grande potencial que pode auxiliar bastante no processo de estabilidade de pigmentos em geral no futuro.

Referências

- AHMED, J.; SHIVHARE, U.S.; RAGHAVAN, G.S.V. Thermal degradation kinetics of anthocyanin and visual colour of plum puree. *European Food Research and Technology*, v.218, p.525-528, 2004.
- BIACS, P.A.; DAOOD, H.G. Lipoygenase-catalysed degradation of carotenoids from tomato in the presence of antioxidant vitamins. *Biochemical Society Transactions*, v.28, n.6, p.839-845, 2000.
- BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. *Química do Processamento de Alimentos*. (2. ed.). São Paulo: Livraria Varela Ltda., 1995.
- BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.) *Anthocyanins as food colors*. London: Academic Press, p.1-40, 1982.
- BROUILLARD, R. The in vivo expression of anthocyanin color in plants. *Phytochemistry*, v.22, p.1311-1323, 1983.
- CABRITA, L.; FOSSEN, T.; ANDERSEN, O.M. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chemistry*, v.68, p.101-107, 2000.
- CHEN, B. H.; TANG, Y. C. Processing and stability of carotenoid powder from carrot pulp waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.46, p.2312-2318, 1998.
- ÇINAR, I. Stability studies on the enzyme extracted sweet potato carotenoproteins. *Food Chemistry*, v.89, p.397-401, 2005.
- COSTA, C.T.; HORTON, D.; MARGOLIS, S.A. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, v.881, p. 403-410, 2000.
- CLYDESDALE, F.M. Color as a factor in food choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.33, n.1, p.83-101, 1993.
- DAO, L.T.; TAKEOKA, G.R.; EDWARDS, R.H.; BERRIOS, J.D.J. Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.46, p.3564-3569, 1998.
- DEGENHARDT, A.; KAPP, H.; WINTERHALTER, P.; Separation and purification of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p.338-343, 2000.
- DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A.R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.40, n.3, p.173-289, 2000.
- DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*, v.35, n.1, p.5-22, 2000.



- ECFR: Electronic Code of Federal Regulations, USA (e-CFR). *Foods and Drugs, Color Additives*. Title 21, Part 70.3, 2007. Disponível em <http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&sid=0d581a948f0644d117dcaebdda5eb6e2&rgn=div5&view=text&node=21:1.0.1.1.24&idno=21>; acesso em 20/05/2007.
- EICHHORN, S.; WINTERHALTER P. Anthocyanins from pigmented potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. *Food Research International*, v.38, n.8-9, p.943-948, 2005.
- FRANCIS, F.J. Analysis of Anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed). *Anthocyanins as Food Colors*. New York: Academic Press, p.182-205, 1982.
- FRANCIS, F.J. Food colorants: anthocyanins. *Reviews in Food Science and Nutrition*, v.28, n.4, p.273-314, 1989.
- FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. *Cereal Foods World*, v. 45, p.208-213, 2000.
- FURTADO, M. *Corantes: indústria de alimentos adere aos corantes naturais*. Disponível em: <http://www.quimica.com.br/revista/qd421/corantesl.htm>; acesso em 26/08/2006.
- GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; ROMERO, F.; ABELLAN, P.; ARTES, F.; TOMAS-BARBERAN, F.A. Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *Journal of Food Science*, v.64, p.243-247, 1999.
- GIMENEZ, J.; KAJDA, P.; MARGOMENOU, L.; PIGGOTT, J.R.; ZABETAKIS, I.A. Study on the colour and sensory attributes of high-hydrostatic-pressure jams as compared with traditional jams. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.81, p.1228-1234, 2001.
- GIUSTI, M.M.; RODRIGUEZ-SAONA, L.E.; WROLSTAD, R.E. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.47, p.4631-4637, 1999.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R.E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, v.14, p.217-225, 2003.
- HARBORNE, J.B. Plant polyphenols. XI, structure of acylated anthocyanins. *Phytochemistry*, v.3, p.151-160, 1964.
- HEATON, J.W.; LENCKI, R.W.; MARANGONI, A.G. Kinetic model for chlorophyll degradation in green tissue. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.44, p.399-402, 1996.
- HENRY, B.S. Natural Food Colors. In: HENDRY, G.A.F.; HOUGHTON, I.D. (Eds). *Natural Food Colorants* (2. ed.). Glasgow: Blackie Academic and Professional, p.40-79, 1996.
- HERBACH, K.M.; STINTZING, F.C.; CARLE, R. Betalain Stability and Degradation - Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science*, v.71, n.4, p.41-50, 2006.
- JACKMAN, R. L. AND SMITH, J. L. Anthocyanins and Betalains. In: HENDRY, G.A.F.; HOUGHTON, I.D. (Eds). *Natural Food Colorants* (2. ed.). Glasgow: Blackie Academic and Professional, p.249-250, 1996.
- KADER, F.; IRMOULI, M.; ZITOUNI, N.; NICOLAS, J.; METCHE, M. Degradation of cyanidin 3-glucoside by caffeic acid o-quinone. Determination of the stoichiometry and characterization of the degradation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.47, n.11, p.4625-4630, 1999.
- KOCA, N.; KARADENIZ, F.; BURDURLU, H.S. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry*, v.100, p.609-615, 2006.
- KLÄUI, H. Carotenoids and their applications. In: COUNSELL, J.N.; DUNASTABLE, J.A. (Eds.). *Natural Colours for Food and Other Uses*. London: Applied Science, p.91-122, 1979.
- KONG, J.M.; CHIA, L.S.; GOH, N.K.; CHIA, T.F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, v.64, p.923-933, 2003.
- MARTINS, R.C.; SILVA, C.L.M. Modelling colour and chlorophyll losses of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *International Journal of Refrigeration*, v.25, p.966-974, 2002.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments



in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry*, v.25, p.207-225, 1987.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. *Exportação de agronegócio brasileiro*, 2006. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/portal/page>; acesso em 05/05/2007.

MOK, C.; HETTIARCHY, N.S. Heat stability of sunflower-hull anthocyanin pigment. *Journal of Food Science*, v.55, n.2, p.553-555, 1991.

OLSEN, J.A. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of β -carotene to vitamin A. *Journal of Nutrition*, v.119, p.105-108, 1989.

PALOMINO, O.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M.P.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Study of polyphenols in grape berries by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v.870, n.1-2, p.449-451, 2000.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K. Flesh quality and lycopene stability of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, v.31, p.159-166, 2004.

PINTO, A.C. O Brasil dos Viajantes e dos Exploradores e a Química de Produtos Naturais Brasileira. *Química Nova*, v.18, n.6, p.608-615, 1995.

REIN, M. J.; HEINONEN, M. Stability and enhancement of berry juice color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, n.10, p.3106-3114, 2004.

REYNOSO, R.; GARCIA, F.A.; MORALES D.; MEJIA, E.G. Stability of Betalain Pigments from a Cactacea Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.45, p.2884-2889, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Factors influencing carotenoid composition in foods. In: 4th International Symposium on Natural Colorants, 2000, San Diego. Proceedings of the 4th International Symposium on Natural Colorants. Hamden, CT: The Hereld Organization, 2000, p. 252-263.

SCHOEFS, B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. *Trends in Food Science & Technology*, v.13, p.361-371, 2002.

SCHWARTZ, S.J.; WOO, S.L.; VON ELBE, J.H. High performance liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives in fresh and processed spinach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.29, p.533-535, 1981.

STANTON, J.L. Consumer food trends that will impact food and beverage consumption world wide. *Fruit Processing*, v.2, p.48-51, 1999.

STINTZING, F.C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology*, v.216, p.303-311, 2003.

STREIT, N.M.; CANTERLE, L.P.; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, L.H.H. The Chlorophylls. *Ciência Rural, Santa Maria*, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

STRINGHETA, P.C. Uso e aplicação de corantes naturais. Apresentação realizada no evento sobre "Corantes artificiais e naturais em alimentos". 19 de abril de 2007, ITAL, Campinas, CP

SU, Q.; ROWLEY, K.G.; BALAZS, N.D.H. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. *Journal of Chromatography B*, v.781, p.393-418, 2002.

TALCOTT, S.T.; BRENES, C.H.; PIRES, D.M.; DEL POZO-INSFRAN, D. Phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, p.957-963, 2003.

TANG, Y.C.; CHEN, B.H. Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage. *Food Chemistry*, v.69, p.11-17, 2000.

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.

TIMBERLAKE, C.F.; BRIDLE, P. Spectral studies of anthocyanin and anthocyanidin equilibrium in aqueous solution. *Nature*, v.212, p.158-159, 1966.

TIMBERLAKE, C.F.; BRIDLE, P. Anthocyanins. In: WALFORD, J. (Ed.). *Developments in Food Colours*. England: Applied Science Publisher, v.1, p.115-149, 1980.

VILJANEN, K.; KIVIKARI, R.; HEINONEN, M. Protein-lipid interactions during liposome oxidation with



added anthocyanin and other phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, p.1104-1111, 2004.

VON ELBE, J.H.E.; SCHWARTZ, S.J. Colorants. In: FENNEMA, O.R. *Food chemistry*. (3. ed.) New York: Marcel Dekker, p.651-722, 1996.

WISSGOTT, U.; BORTLIK, K. Prospects for new natural food colorants. *Trends in Food Science & Technology*, v.7, p.298-302, 1996.

ZANATTA, C. F. *Determinação da Composição de Carotenóides e Antocianinas de Camu-Camu (Myrciaria dubia)*. Campinas. Tese (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2004.

