



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO CINÉTICA E TERMODINÂMICA DO PROCESSO  
DEGRADATIVO DE ANTOCIANINAS DE EXTRATO DE *Eugenia involucrata*  
(CEREJEIRA-DO-MATO)

LAUREN MENEGON DE OLIVEIRA

RIO GRANDE, RS

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO CINÉTICA E TERMODINÂMICA DO PROCESSO  
DEGRADATIVO DE ANTOCIANINAS DE EXTRATO DE *Eugenia involucrata*  
(CEREJEIRA-DO-MATO)

LAUREN MENEGON DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia Química da  
Universidade Federal do Rio Grande-FURG  
como requisito parcial para obtenção do título de  
Mestre em Engenharia Química

Orientadora: Prof. Dra. Francine Silva Antelo

RIO GRANDE, RS

2017

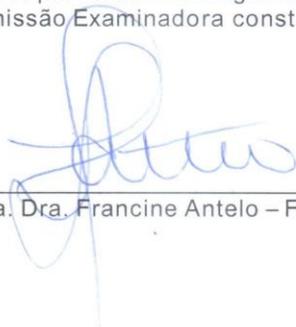
## Ficha catalográfica

O482d Oliveira, Lauren Menegon de.  
Determinação das melhores condições de extração e caracterização cinética e termodinâmica do processo degradativo de antocianinas de *Eugenia involucrata* (cerejeira-do-mato) / Lauren Menegon de Oliveira. – 2017.  
98 p.  
  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química Rio Grande/RS, 2017.  
Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Francine Silva Antelo.  
  
1. Planejamento experimental 2. Cor 3. Conservantes 4. Antocianinas  
5. Degradação I. Antelo, Francine Silva II. Título.

CDU 664

## APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Lauren Menegon de Oliveira e aprovada em 31 de março de 2017, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:



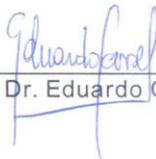
---

Profa. Dra. Francine Antelo – FURG



---

Profa. Dra. Cristina Benincá – FURG



---

Prof. Dr. Eduardo Cassel – PUCRS



---

Profa. Dra. Susana Juliano Kalil – FURG

Dedico este trabalho à minha família, por todo apoio, incentivo e amor incondicional que me deram durante essa caminhada.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por iluminar meu caminho, dar forças e coragem para seguir em frente.

Aos meus pais, por acreditarem em mim e primarem pela minha educação, mas principalmente à minha mãe Joilene, que fez o melhor por mim e nunca mediu esforços para que eu chegasse até aqui. Que sempre me incentivou perante os desafios a fazer mais e melhor. Mãe, você é meu exemplo.

Aos meus irmãos Leonardo, Gabriel e Eduardo, que mesmo longe se fizeram presentes, dividindo as tristezas e compartilhando minhas vitórias, em especial ao Gabriel que precisou algumas vezes abrir mão dos sonhos dele em função dos meus. Sou eternamente grata.

Às minhas amigas Mariana Ávila e Roberta Klein, por terem se tornado mais que melhores amigas, por tornarem os fardos mais leves, as alegrias mais intensas e por fazer de cada momento único. Grande parte desta conquista é dedicada à vocês.

Às minhas amigas do Mato Grosso, por compreenderem a importância do mestrado para mim, e por sempre tornarem minhas férias especiais.

Às minhas amigas Andressa Baldissera e Gabriela Cassol, por terem me acolhido em Santo Antônio da Patrulha e por fazerem meus dias mais divertidos.

Aos meus amigos Bernardo Zanette, Bruno Freire e Lucas Leites, pela amizade incondicional e pelas incontáveis horas de conversa.

Às minhas estagiárias Gabrielle Izaguirres e Sacha Killes, por toda ajuda que me deram ao longo do projeto.

À funcionária Silvia Messaggi, pelas risadas e pela companhia nas noites de laboratório.

À prof. Dr<sup>a</sup> Cristina Benincá e à prof. Dr<sup>a</sup> Susana Kalil, ao prof. Dr. Adriano da Silva e ao prof. Dr. Eduardo Cassel por todas as sugestões feitas para melhorar meu trabalho.

À prof. Dr<sup>a</sup> Francine Antelo, minha orientadora, por todo ensinamento, toda orientação prestada, disponibilidade, apoio, paciência e principalmente pela confiança ao longo da minha trajetória. Foi uma honra ter sido sua orientada. Você é um exemplo de profissional que um dia quero me tornar.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, que mesmo diante da crise não mediram esforços para compartilhar o conhecimento.

À Universidade Federal do Rio Grande - SAP pela estrutura fornecida.

À todos aqueles que de alguma forma contribuíram para minha formação e me auxiliaram na realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

A cor dos alimentos é o principal atributo para sua escolha. Antocianinas são corantes naturais encontrados em frutas e vegetais, destacando-se pelo aumento da preferência do consumidor por alimentos mais saudáveis, o que tem levado a substituição, ainda que discreta, dos corantes artificiais pelos naturais. Os objetivos deste trabalho foram estabelecer as condições de extração mais adequadas às antocianinas de *Eugenia involucrata* utilizando-se um planejamento fatorial  $2^3$  para a fruta com casca e outro para fruta sem casca, assim como caracterizar cinética e termodinamicamente o processo degradativo entre 10 e 90°C na ausência e na presença de agentes conservantes. Também verificar a correlação entre a cor e a concentração das antocianinas do extrato na faixa de temperatura estudada. À temperatura de 55°C, por 30 minutos e para a fruta com casca, obteve-se a maior concentração de antocianinas. Prosseguiu-se com essa condição de extração e caracterizou-se cinética e termodinamicamente o extrato em 10, 25, 50, 60, 70, 80 e 90°C. A cinética seguiu um modelo de primeira ordem. Com o incremento da temperatura, houve um aumento na constante de degradação térmica e consequentemente uma redução da meia-vida para cada condição de extrato proposta. Adicionou-se ao extrato 7,5 e 15 g/L de esteviosídeo, 20 e 40 % de sacarose (m/v), 20 e 40% de frutose (m/v) e 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) e verificou-se que na temperatura de 90°C a adição de 15 g/L de esteviosídeo aumentou a meia-vida do extrato. Nas temperaturas de 80, 70 e 60°C nenhum conservante influenciou na meia-vida. Nas temperaturas de 50 e 25°C a adição de 40% de sacarose (m/v) proporcionou um aumento da meia-vida, assim como a adição de 7,5 e 15 g/L de esteviosídeo e de 20 e 40% de sacarose (m/v) na temperatura de refrigeração (10°C). Com a adição dos conservantes houve um aumento na energia de ativação. A variação da entalpia na faixa de temperatura estudada permitiu verificar que a reação de degradação das antocianinas para cada condição de extrato proposta foi exotérmica, assim como não espontânea e com estado de transição das moléculas mais organizado estruturalmente. Ao analisar a cinética de degradação da cor concluiu-se que a adição de 40% de sacarose (m/v) ao extrato apresentou o melhor comportamento como conservante. Em relação a correlação entre a cor e a concentração de antocianinas pode-se concluir que os parâmetros de degradação térmica da cor  $C^*$  e TCD, seguiram um modelo cinético de primeira ordem e o parâmetro de degradação térmica da cor  $h^\circ$  seguiu um modelo cinético de ordem zero.

Palavras-chave: Planejamento experimental; Cor; Conservantes; Antocianinas; Degradação.

## ABSTRACT

The color of food is the main attribute for your choice. Anthocyanins are natural dyes found in fruits and vegetables, highlighted by increased consumer preference for healthier foods, which has led to the substitution, even if discrete, of artificial dyes by natural. The objectives of this work were to establish the most appropriate extraction conditions for the anthocyanins of *Eugenia involucrata* using a factorial design  $2^3$  for the fruit with bark and another for the bark fruit, as well as to characterize kinetically and thermodynamically the degradation process between 10 and 90°C in the absence and presence of preservatives. Also verify the correlation between the color and the concentration of the anthocyanins of the extract in the studied temperature range. At the temperature of 55°C, for 30 minutes and for the fruit with bark, the highest concentration of anthocyanins was obtained. This extraction condition was followed and the extract was characterized kinetically and thermodynamically at 10, 25, 50, 60, 70, 80 and 90°C. The kinetics followed a first-order model. With the increase of the thermal degradation temperature of the anthocyanins, there was an increase in the thermal degradation constant and consequently a reduction of the half-life for each condition of the proposed extract. To the extract was added 7,5 and 15 g/L stevioside, 20 and 40% sucrose (m/v), 20 and 40% fructose (m/v) and 25 and 50% citric acid (m/v) and it was found that at the temperature of 90 ° the addition of 15 g/L stevioside increased the half-life of the extract. At the temperature of 80, 70 and 60 ° C no preservative influenced the half-life. At 50 and 25°C the addition of 40% sucrose (m/v) provided an increase in half-life as well as the addition of 7,5 and 15 g/L stevioside and 20 and 40% Sucrose (m/v) at the refrigeration temperature (10°C). With the addition of preservatives there was an increase in activation energy. The enthalpy variation in the studied temperature range allowed us to verify that the anthocyanin degradation reaction for each proposed extract condition was exothermic, as well as non-spontaneous and with a transition state of the most structurally organized molecules. When analyzing the kinetics of color degradation it was concluded that the addition of 40% sucrose (m/v) to the extract showed the best behavior as a preservative. Regarding the correlation between color and anthocyanin concentration, it can be concluded that the thermal degradation parameters of the color  $C^*$  and TCD followed a first order kinetic model and the parameter of thermal degradation of the color  $h^\circ$  followed a kinetic model of zero order.

Keywords: Experimental planning; Color; Preservatives; Anthocyanins; Degradation.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Corantes sintéticos utilizados no Brasil, nos Estados Unidos e na União Européia, de acordo com cada órgão institucional específico. ....	21
Tabela 2- Matriz do planejamento experimental reproduzido para as duas condições: fruta com casca (A) e sem casca (B).....	44
Tabela 3 - Valores para os níveis codificados usados nos dois planejamentos fatoriais: fruta com casca (A) e sem casca (B). ....	44
Tabela 4- Intervalo de tempo de retirada de amostra para cada temperatura utilizado na determinação da cinética de degradação de antocianinas de cerejeira-do-mato. ....	46
Tabela 5 - Conservantes utilizados no estudo da degradação .....	46
Tabela 6 - Concentração de antocianinas obtidas a partir dos planejamentos fatoriais utilizando fruta com casca (A) e sem casca (B). ....	48
Tabela 7 - Efeitos calculados para o planejamento fatorial $2^3$ utilizando fruta com casca. ....	51
Tabela 8 - ANOVA para a concentração das antocianinas extraídas da cerejeira-do-mato. ...	52
Tabela 9 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C. ....	62
Tabela 10 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C. ....	63
Tabela 11 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C. ....	63
Tabela 12 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a .....	64
Tabela 13 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C. ....	64

Tabela 14 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C. ....	65
Tabela 15 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C. ....	65
Tabela 16 - Valores de energia de ativação da reação de degradação ( $E_a$ ) para cada condição de extrato proposta. ....	70
Tabela 17 - Valores calculados de coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) para cada condição de extrato proposta na faixa de temperatura de 50 a 70°C. ....	71
Tabela 18- Valores calculados de coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) para cada condição de extrato proposta na faixa de temperatura de 50 a 90°C. ....	72
Tabela 19 - Valores calculados de coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) para cada condição de extrato proposta na faixa de temperatura de 70 a 90°C. ....	72
Tabela 20 - Valores calculados para o intervalo de temperatura (Z) para cada condição de extrato proposta. ....	73
Tabela 21 - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C. ....	74
Tabela 22 - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C. ....	75
Tabela 23 - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C. ....	75
Tabela 24 - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 60°C. ....	76
Tabela 25 - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C. ....	76
Tabela 26- Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C. ....	76

Tabela 27 - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C. ....	77
Tabela 28 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ , $h^\circ$ e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C. ....	79
Tabela 29 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ , $h^\circ$ e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C. ....	79
Tabela 30 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ , $h^\circ$ e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C. ....	80
Tabela 31 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ , $h^\circ$ e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 60°C. ....	80
Tabela 32 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ , $h^\circ$ e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C. ....	81
Tabela 33 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ , $h^\circ$ e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C. ....	81
Tabela 34 - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ , $h^\circ$ e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C. ....	81
Tabela 35 - Valores de energia de ativação da reação de degradação para os parâmetros de $C^*$ , $h^\circ$ e TCD para cada condição de extrato proposto. ....	85
Tabela 36 – Coeficientes da relação linear do parâmetro $C^*$ de degradação térmica da cor do extrato de antocianinas de cerejeira-do-mato. ....	87
Tabela 37 - Coeficientes da relação linear do parâmetro $h^\circ$ de degradação térmica da cor do extrato de antocianinas de cerejeira-do-mato. ....	87
Tabela 38 - Coeficientes da relação linear do parâmetro TCD de degradação térmica da cor do extrato de antocianinas de cerejeira-do-mato. ....	87

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das antocianidinas (agliconas).....	25
Figura 2 - Estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das antocianidinas (agliconas).....	25
Figura 3 - Variação estrutural das antocianinas em função do pH.....	26
Figura 4 - Eugênia involucrata (cerejeira-do-mato).....	27
Figura 5 - Stévia e esteviosídeo.....	33
Figura 6 - Estrutura molecular da sacarose com o hidrogênio anomérico em destaque.....	34
Figura 7 – Frutose.....	34
Figura 8 - Ácido cítrico.....	35
Figura 9 - Sistema de coordenadas de cores CIELAB.....	36
Figura 10 - Extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato obtidos a partir do planejamento experimental da fruta com casca.....	50
Figura 11 – Extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato obtidos a partir do planejamento experimental da fruta sem casca.....	50
Figura 12 - Superfícies de resposta para solvente X tempo (A), solvente x temperatura (B) e tempo x temperatura (C).....	52
Figura 13 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C.....	53
Figura 14 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C.....	54
Figura 15 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C.....	56
Figura 16 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 60°C.....	57
Figura 17 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C.....	58
Figura 18 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C.....	60
Figura 19 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C.....	61

Figura 20 - Dados experimentais das constantes de degradação térmica ( $k_d$ ) em função da temperatura para o cálculo da energia de ativação da reação de degradação ( $E_a$ ) através da equação de Arrhenius para cada condição de extrato proposta. .... 69

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
3.1 IMPORTÂNCIA DA COR.....	19
3.2 CORANTES NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA.....	19
<b>3.2.1 Legislação</b> .....	20
<b>3.2.2 Classificação dos corantes alimentícios</b> .....	22
3.2.2.1 Corantes sintéticos.....	22
3.2.2.2 Corantes naturais.....	23
3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	23
<b>3.3.1 Antocianinas</b> .....	24
<b>3.3.2 <i>Eugênia involucrata</i> (cerejeira-do-mato)</b> .....	27
3.4 EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS.....	28
3.5 QUANTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS.....	29
3.6 ESTABILIDADE.....	31
<b>3.6.1 Uso de conservantes</b> .....	32
3.6.1.1 Esteviosídeo.....	32
3.6.1.2 Sacarose.....	33
3.6.1.3 Frutose.....	34
3.6.1.4 Ácido cítrico.....	34
3.7 AVALIAÇÃO DA COR.....	35
3.8 CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS E DA COR.....	37
3.9 RELAÇÃO ENTRE A COR E A CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS.....	41
3.10 TERMODINÂMICA DO PROCESSO DEGRADATIVO.....	41
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	43
4.1 COLETA DO MATERIAL.....	43
4.2 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS.....	43
4.3 QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS.....	44
4.4 CARACTERIZAÇÃO COLORIMÉTRICA.....	45
4.5 DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS E DA COR.....	46
<b>4.5.1 Constante cinética de degradação das antocianinas e da cor</b> .....	46
<b>4.5.2 Meia-vida</b> .....	47
<b>4.5.3 Energia de ativação da reação de degradação</b> .....	47

4.5.4	Tempo de redução decimal.....	47
4.6	DETERMINAÇÃO DA TERMODINÂMICA DO PROCESSO DEGRADATIVO .....	48
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	48
4.8	RELAÇÃO ENTRE A COR E A CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS .....	48
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
5.1	EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS.....	48
5.2	DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS PARA AS CONDIÇÕES DE EXTRATO PROPOSTAS .....	53
5.3	ANÁLISE TERMODINÂMICA DO PROCESSO DE DEGRADAÇÃO DE ANTOCIANINAS .....	74
5.4	DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DA COR PARA AS CONDIÇÕES DE EXTRATO PROPOSTAS .....	78
5.5	RELAÇÃO ENTRE A COR E A CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS PARA AS CONDIÇÕES DE EXTRATO PROPOSTAS.....	86
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>88</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>91</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A cor é um importante atributo na aparência, processamento e aceitabilidade de alimentos. Manter a cor natural do produto ou intensificá-la é determinante para a primeira avaliação do consumidor, pois antes de experimentar sensações gustativas, ocorre a atração inicial pela visão, que associa alimentos coloridos e vistosos como alimentos altamente palatáveis (PRADO e GODOY, 2007).

Inúmeros produtos alimentícios originalmente não apresentam cor ou ela pode ser perdida ou alterada durante o processamento, surgindo então a necessidade da adição de corantes com a finalidade de conferir ou restaurar a coloração (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2006).

Os corantes artificiais, tradicionalmente usados nos processamentos alimentícios continuam sendo os mais utilizados pelas indústrias por apresentarem menores custos de produção e maior estabilidade frente aos naturais. Entretanto está ocorrendo um aumento da preferência do consumidor por alimentos mais saudáveis, o que tem levado a substituição, ainda que discreta, dos corantes artificiais pelos naturais. Contudo, essa substituição enfrenta dificuldades, principalmente nas condições de processamento e armazenamento dos alimentos (SOUZA, 2012).

Por conta disso, existe uma grande demanda de pesquisas para desenvolver corantes alimentícios a partir de fontes naturais, visando diminuir (ou eliminar) gradativamente a dependência do uso de corantes alimentícios sintéticos no processamento de alimentos (FRANCIS, 1989).

As antocianinas destacam-se por serem pigmentos naturais pertencentes à família dos flavonoides e são responsáveis por conferir cor vermelha, azul e púrpura a diversos tecidos de plantas (TAIZ e ZEIGER, 1991). Embora apresentem diversos efeitos farmacológicos, o uso destes pigmentos ainda é limitado pois são instáveis à variação de temperatura, pH, luz, oxigênio e à presença de enzimas (MARKAKIS, 1982).

O uso de antocianinas como corante é indicado para alimentos não submetidos a temperaturas elevadas durante o processamento, com tempo curto de armazenamento e embalados de forma que a exposição à luz, ao oxigênio e à umidade seja minimizada (FENNEMA, 2000).

A temperatura é um dos fatores críticos na degradação de antocianinas, portanto, estudos são relevantes já que seu uso vem crescendo em decorrência de pesquisas sobre potenciais

benefícios em produtos de consumo humano e outras aplicações (COELHO, 2011), assim como a adição de conservantes para analisar seus efeitos na estabilidade da cor.

Esses pontos críticos da sua utilização têm sido intensamente analisados e diversas propostas para solucioná-los indicam um futuro promissor para o emprego dessa matéria-prima e o apelo mercadológico estimula cada vez mais o desenvolvimento de novos estudos com o intuito de superar as limitações tecnológicas existentes (SOUZA, 2012).

Diante disso, a caracterização cinética e termodinâmica a partir de estudos experimentais e a aplicação de modelos para prever e interpretar parâmetros cinéticos, como a ordem de reação, taxa de reação, energia de ativação, entalpia, entropia e energia de Gibbs, tornam-se essenciais para prever as trocas de qualidade que podem ocorrer durante o tratamento térmico das antocianinas (AHMED *et al.*, 2002; KARA e ERÇELEBI, 2013).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho tem como objetivo estabelecer as melhores condições de extração de antocianinas de *Eugenia involucrata* assim como avaliar a degradação térmica do extrato de antocianinas e da troca de cor sob condições de aquecimento, ambiente e de resfriamento.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer as condições de extração mais adequadas às antocianinas de *Eugenia involucrata*, utilizando a ferramenta de planejamento experimental;
- Determinar o modelo cinético da degradação térmica do extrato de antocianinas e da troca de cor em condição forçada de aquecimento, entre 50 e 90°C, em condição ambiente (25°C) e de resfriamento (10°C), com pH ajustado para 3;
- Caracterizar termodinamicamente o processo degradativo do extrato de antocianinas em condição forçada de aquecimento, entre 50 e 90°C, em condição ambiente (25°C) e de resfriamento (10°C), com pH ajustado para 3;
- Avaliar a cinética e a termodinâmica do processo degradativo do extrato de antocianinas e da cor em condição forçada de aquecimento, entre 50 e 90°C, em condição ambiente (25°C) e de resfriamento (10°C), com pH ajustado para 3, utilizando esteviosídeo, sacarose, frutose e ácido cítrico como conservantes da cor.
- Verificar a correlação entre a cor e a concentração das antocianinas do extrato na faixa de temperatura estudada.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 IMPORTÂNCIA DA COR

As pessoas utilizam-se comumente de sua visão para detectar fatores organolépticos como a cor para se sentirem atraídas ou inibidas com relação ao consumo de alimentos, já que não podem degustar os produtos no processo de compra, na maioria dos casos (ROCHA e REED, 2014). Os órgãos sensitivos humanos são responsáveis por capturar 87% de sua percepção pela visão, 9% pela audição e o restante, 4%, por meio do olfato, paladar e tato. Desta forma, a cor é uma característica que exerce fundamental importância na indução da sensação global resultante de outras características, como o sabor, o aroma e a textura dos alimentos (CONSTANT *et al.*, 2002).

A coloração dos alimentos é determinada pela presença de substâncias que além de colorir, trazem efeitos benéficos à saúde humana atuando na proteção do organismo e na prevenção de doenças. A predominância de determinado nutriente ou fito químico representa cada cor. Assim, recomenda-se variedade ao se montar o prato, que deve conter ao menos cinco cores diferentes de alimentos. Obtêm-se melhores resultados promovendo a interação química entre alimentos de cores diferentes, uma vez que o efeito das substâncias é potencializado pela interação entre tais compostos devido a diversidade de princípios nutritivos e componentes bioativos (ROCHA e REED, 2014).

Segundo Bobbio e Bobbio (1992), a cor dos alimentos pode ser proveniente de pigmentos naturais ou da adição de corantes sintéticos. Todavia, pode haver a formação de substâncias coloridas, como os caramelos e melanoidinas, ou até mesmo a perda de pigmentos durante as etapas de processamento e armazenamento do alimento.

#### 3.2 CORANTES NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

A coloração é a primeira qualidade sensorial pelo qual os alimentos são julgados e, portanto, amplamente utilizada na indústria alimentícia para atender as expectativas dos consumidores, que usualmente associam cor ao sabor, cheiro ou qualidade do produto. Por essa razão, o setor alimentício preocupa-se tanto com a aplicação de cores (através do uso de corantes) e obtenção de alimentos que agradem aos olhos do consumidor, pois além de necessária para sobrevivência, a alimentação também é fonte de prazer e satisfação (CONSTANT, STRINGHETA, SANDI, 2002).

Os corantes alimentícios são substâncias que transmitem aos alimentos novas cores ou exaltam as que eles já possuem, com a finalidade de melhorar seu aspecto. Até meados do século XIX, a cor era obtida de fontes naturais, como extratos de plantas, árvores, líquens ou de insetos, mas devido à dificuldade de extração e alto custo, estes corantes eram reservados para os mais privilegiados e utilizados principalmente na tintura de tecidos, o que simbolizava poder. Apenas em 1856, Henry Perkin sintetizou o primeiro corante, a mauveína, também denominada anilina roxa e desde então, um grande número de corantes é produzido e esses são utilizados nas indústrias alimentícias, têxteis, de papel, cerâmica e entre outras, sendo que existem aproximadamente 10.000 tipos de corantes (SAHOO, 2005).

No passado, os corantes artificiais eram os principais agentes de coloração dos produtos industrializados. Porém, nas últimas décadas, com base nos resultados de estudos toxicológicos, o uso de inúmeros corantes tem sido proibido por legislações de países específicos e observa-se uma nova tendência no consumo de corantes que resultou em uma pequena substituição dos sintéticos pelos naturais. O uso indiscriminado e cumulativo dos aditivos sintéticos aumentou as intoxicações por chumbo, arsênico e mercúrio, além do risco de se desenvolver câncer. Nos EUA, o FDA (Food and Drug Administration) permite o uso de apenas sete corantes artificiais na indústria alimentícia e de cosméticos sendo que este número já chegou a 80. No Brasil existem 11 tipos de corantes artificiais permitidos e o interesse e o consumo dos corantes naturais têm aumentado muito nos últimos anos (MORITZ, 2005).

### **3.2.1 Legislação**

De acordo com a legislação vigente, os corantes são uma classe de aditivos alimentares, definidos como substâncias que têm a finalidade de conferir, intensificar ou padronizar a coloração dos produtos alimentícios, proporcionando as mesmas características de um produto natural. Segundo o Item 1.2 da Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997, aditivo é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos com o objetivo de modificar suas características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante sua fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação, sem o propósito de nutrir (BRASIL, 1997).

Atualmente existem órgãos públicos que estabelecem quais corantes sintéticos são permitidos para uso após avaliação toxicológica. Porém, cada país adota sua própria regulamentação, o que dificulta a extinção total da produção de certos corantes (FRICK, 2003).

No Brasil o órgão responsável pela regulamentação do uso de corantes é a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), e este permite o uso de 11 corantes sintéticos. Na Tabela 1 são apresentados os corantes sintéticos utilizados no Brasil, nos Estados Unidos e na União Europeia para efeito de comparação. Todos os corantes artificiais permitidos pela Legislação Brasileira já possuem valor definido de ingestão diária aceitável (IDA), embora esses valores estejam sujeitos a alterações contínuas, dependendo dos resultados de estudos toxicológicos. O Comitê conjunto FAO/OMS (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação/ Organização Mundial da Saúde) de peritos em aditivos alimentares, JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives), em nível internacional, recomenda que cada país verifique periodicamente o consumo total de cada aditivo, com base em estudos de dieta, para se assegurar que a ingestão total do aditivo não ultrapasse a IDA (PRADO, 2007).

**Tabela 1** - Corantes sintéticos utilizados no Brasil, nos Estados Unidos e na União Européia, de acordo com cada órgão institucional específico.

<b>Classificação</b>	<b>Corante</b>	<b>ANVISA</b>	<b>UE</b>	<b>FDA</b>	<b>JECFA</b>
<b>Trifenilmetano</b>	Azul brilhante FCF	Sim	Sim	Sim	Sim
	Verde rápido FCF	Sim	Não	Sim	Sim
	Verde S	Não	Sim	Não	Não
	Azul patente	Sim	Sim	Não	Não
<b>Azo</b>	Alaranjado B	Não	Não	Sim	Não
	Vermelho citrus n°2	Não	-	Sim	Não
	Vermelho allura	Sim	Sim	Sim	Sim
	Amaranto	Sim	Sim	Não	Sim
	Azorrubina	Sim	Sim	Não	Sim
	Preto brilhante BN	Não	Não	Sim	Sim
	Marron FK	Não	Sim	Não	Não
	Marron HT	Não	Sim	Não	Sim
	Lithil Rubine BK	Não	Sim	Não	Não
	Ponceau 4R	Sim	Sim	Não	Sim
	Vermelho 2G	Não	Sim	-	Sim
	Amarelo crepúsculo	Sim	Sim	Sim	Sim
	Tartrazina	Sim	Sim	Sim	Sim
<b>Quinophthalon</b>	Amarelo de quinolina	Não	Sim	-	Sim
<b>Xanteno</b>	Eritrosina	Sim	Sim	Sim	Sim
<b>Indigo</b>	Indigotina	Sim	Sim	Sim	Sim

\*FDA- Food and Drug administration

\*EU- European Union

\*JECFA – Joint Expert Committee on Food Additives

### **3.2.2 Classificação dos corantes alimentícios**

Os corantes utilizados em alimentos e bebidas são classificados com relação a sua origem, em naturais (vegetal e animal) e sintéticos.

#### **3.2.2.1 Corantes sintéticos**

Os corantes sintéticos são uma classe de aditivos sem valor nutritivo, introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos. Por esse motivo, do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais em geral não são recomendados, justificando seu uso, quase que exclusivamente, do ponto de vista comercial e tecnológico (RIEDEL, 1987).

Com a descoberta dos corantes sintéticos nos séculos XVIII e XIX, bem como da influência da cor na aparência e, conseqüentemente, de uma maior aceitação dos produtos pelos consumidores, o interesse das indústrias pelo uso dos corantes artificiais aumentou, inclusive na tentativa de mascarar alimentos de baixa qualidade. Desde então, os corantes sintéticos foram cada vez mais usados, especialmente por apresentarem maior uniformidade, estabilidade e poder tintorial em relação às substâncias naturais, incentivando novas descobertas (QUEIJA, QUEIRÓS, RODRIGUES, 2001).

Os também chamados corantes artificiais fornecem uma ampla gama de cores, proporcionando praticamente todas as tonalidades do espectro visível de cor. Sua maioria apresenta alta estabilidade com relação à luz, oxigênio, calor e pH, uniformidade na cor conferida e alto poder tintorial. Contudo, apesar dessas vantagens, a sua substituição por corantes naturais vem aumentando progressivamente (NETTO, 2009).

### 3.2.2.2 Corantes naturais

Entre as principais fontes para obtenção de corantes naturais estão as plantas (folhas, flores e frutos), animais (insetos) e micro-organismos (fungos e bactérias) (MENDONÇA, 2011).

Muitos corantes naturais além de atribuir cor aos alimentos que os contém, também possuem propriedades benéficas à saúde humana, ou seja, possuem características funcionais e não só estéticas, como por exemplo, antioxidantes e anti-inflamatórias. Com isso, sua utilização torna-se muito conveniente e interessante, pois além de melhorar a aparência dos alimentos, podem ajudar a promover a saúde de quem os consome (SOUZA, 2012). Outro fator que incentivou e incentiva o consumo de produtos naturais é a consolidação da sensibilização ecológica da população. A utilização destes corantes nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos vem sendo uma exigência dos consumidores (MORITZ, 2005).

Embora os corantes naturais apresentem desvantagens (baixa estabilidade e alto custo) frente aos corantes artificiais, os naturais têm sido utilizados há anos sem evidências de danos à saúde. Portanto, apesar das desvantagens, a substituição por corantes naturais é gradativa na indústria alimentícia, pois conferem ao produto aspecto natural, o que aumenta a aceitação pelo consumidor (GOMES, 2012).

## 3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução. Além disso se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros. Esses compostos encontram-se largamente em plantas e são um grupo muito diversificado de fito químicos derivados de fenilalanina e tirosina. Os fenólicos, em plantas, são essenciais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente antipatogênico e contribuírem na pigmentação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK e SHAHIDI, 2004).

As principais fontes de compostos fenólicos são frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de outras frutas, como por exemplo a cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão, sendo encontrados em maiores quantidades na polpa que no suco da fruta. Pimenta verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate também são excelentes fontes destes compostos (PIMENTEL, FRANCKI, GOLLÜCKE, 2005).

Ribéreau-Gayon (1968) classificou estes compostos em três categorias: pouco distribuídos na natureza, polímeros e largamente distribuídos na natureza.

Na família dos compostos fenólicos pouco distribuídos na natureza, encontra-se um número bem reduzido, embora com certa frequência. Neste grupo estão os fenóis simples, o pirocatecol, a hidroquinona e o resorcinol. Pertencem ainda a esta família os aldeídos derivados dos ácidos benzoicos, que são constituintes dos óleos essenciais, como a vanilina (SOARES, 2002).

Os polímeros são alguns fenólicos que não se apresentam na forma livre nos tecidos vegetais, esta família engloba os taninos e as ligninas (KING, YOUNG, 1999).

Na família dos compostos largamente distribuídos na natureza estão os fenólicos encontrados geralmente em todo reino vegetal, mas às vezes podem estar localizados em uma só planta. Este grupo, pode se dividir em flavonoides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzoico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (KING, YOUNG, 1999).

### **3.3.1 Antocianinas**

As antocianinas são compostos da família dos flavonoides e constituem o grupo de pigmentos responsáveis por grande parte das cores em flores, frutas, folhas, caules e raízes de plantas (MARKAKIS, 1982).

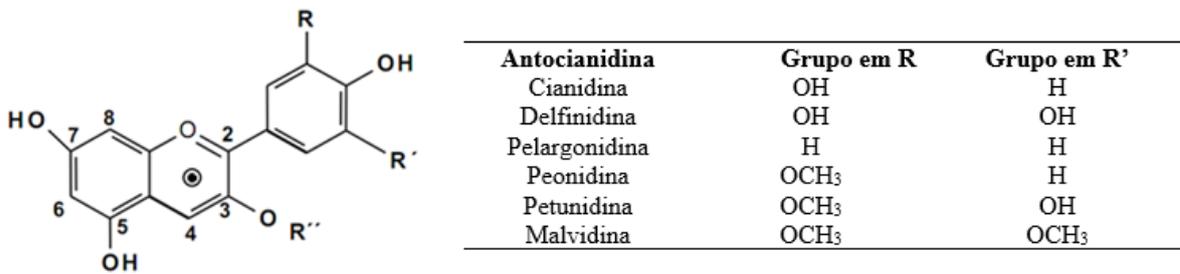
Quimicamente esses flavonoides são estruturas polihidroxiladas e polimetoxiladas derivadas do cátion flavílium, sendo encontrados na natureza na sua forma glicosilada (MAZZA e MINIATI, 1993). Diferentes ácidos podem estar ligados a esses açúcares, contribuindo para a diferenciação entre as antocianinas (STRACK e WRAY, 1994). Os açúcares, que normalmente encontram-se ligados às agliconas, são a glicose, a ramnose, a galactose, a xilose e a arabinose. Além disso, podem estar acilados com ácidos aromáticos ou alifáticos como p-cumárico, cafeico e ferúlico (VIZZOTTO, 2012).

A molécula de antocianina não glicosilada (aglicona) é denominada antocianidina e raramente ocorre na natureza e em geral, é resultante do processo de isolamento das antocianinas. Estruturalmente, as antocianinas são derivados glicosilados do cátion 2-fenil benzopirílium, também denominado de cátion flavílium.

A Figura 1 apresenta a estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das antocianidinas (agliconas). A substituição de “R” por uma ou mais unidades de açúcar na

antocianidina resulta em uma antocianina. Outras unidades de açúcares também podem ser ligadas pelos grupos nas posições 3, 5, e 7.

**Figura 1** - Estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das antocianidinas (agliconas).

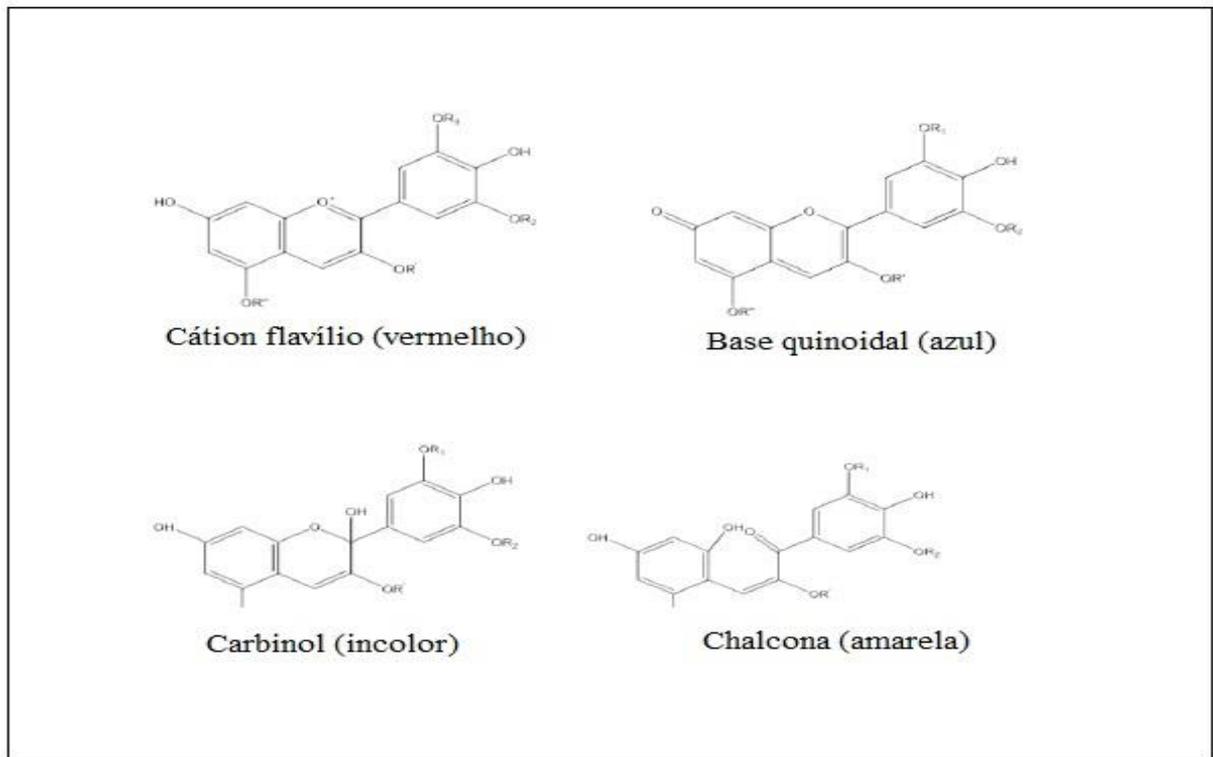


Fonte: Rein, 2005

Dentre as frutas que contêm antocianinas, estão incluídas as amoras, as framboesas vermelhas e pretas, as cerejas, as groselhas, as uvas Concord e outras uvas vermelhas, as romãs, as groselhas maduras, as maçãs de casca vermelha, pétalas de flores vermelhas (WENZEL, 2001) e a cerejeira-do-mato. Apesar de existirem aproximadamente 400 tipos de antocianinas, poucas delas apresentam-se como fonte comercial desse pigmento, apenas a uva e o repolho roxo tem sido empregados comercialmente (CONSTANT, 2002).

Os pigmentos são facilmente degradados durante o processamento de alimentos. A instabilidade destes compostos está relacionada à composição inicial do produto de origem, sendo influenciada pelo tipo de antocianinas (estrutura química) e pela presença de determinados componentes dos alimentos como enzimas, íons metálicos, ácido ascórbico, dióxido sulfúrico, açúcares e copigmentos. De acordo com Lopes (2007) as antocianinas podem apresentar diferentes formas estruturais, tais como o cátion flavílium, a base quinoidal ou carbinol e a chalcona, como mostra a Figura 2. Os principais responsáveis pela degradação das antocianinas são fatores externos como temperatura, pH, luz e a presença de oxigênio que ocasiona diferentes colorações as antocianinas oscilando entre vermelho, laranja e roxo (FRANCIS e MARKAKIS, 1989; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; FENNEMA, 2000).

**Figura 3** - Variação estrutural das antocianinas em função do pH.



Fonte: Lopes, 2007

A principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios, pois as antocianinas possuem grupos cromóforos que são bastante sensíveis às alterações de pH do meio, e durante a preparação e processamento dos alimentos, o conteúdo de antocianinas pode decrescer em até 50%, seja durante a lavagem com água devido à sua solubilidade ou pela remoção de porções dos alimentos que sejam ricas em flavonoides (ANDERSEN *et al.*, 1998).

Em relação à temperatura, à medida que se submete uma solução de antocianinas a uma temperatura superior a ambiente, sua degradação é maior e mais acentuada quando se aumenta o pH do meio (STRINGUETA, 1991).

O interesse em antocianinas está relacionado ao potencial de utilização das mesmas como corantes em diferentes segmentos da indústria e a diversas propriedades benéficas a saúde relacionada a esses compostos (ZHAI e YANG, 2010). Suas propriedades farmacológicas e medicinais possuem ação anticarcinogênica, anti-inflamatória e antimicrobiana, prevenindo a oxidação de proteínas de baixa densidade (LDL), enfermidades cardiovasculares e doenças neurológicas. Diversos grupos de pesquisa sugeriram a importância de frutas e hortaliças que contenham antocianinas para uma dieta rica em antioxidantes (KUSKOKKI *et al.*, 2002).

### 3.3.2 *Eugenia involucrata* (cerejeira-do-mato)

O gênero *Eugenia* destaca-se como um dos maiores e figura entre os mais importantes economicamente na família das mirtáceas, com espécies de valor comercial nutritivo e potencial de aproveitamento de fármaco. Algumas espécies desse gênero de ocorrência na região Sul do Brasil são: cerejeira-do-mato ou cerejeira-do-rio-grande (*E. involucrata* D.C.), pitangueira (*E. uniflora* L.) e grumixameira (*E. brasiliensis* Lam.) (SILVA *et al.*, 2003).

A cerejeira-do-mato, *Eugenia involucrata* (Figura 3), é considerada arbustiva (arbusto) a arbórea (arvoreta a árvore), de comportamento sempre-verde ou perenifólio de mudança foliar. As árvores maiores atingem dimensões próximas a 15 m de altura e 40 cm de DAP (diâmetro à altura do peito, medido a 1,30 m do solo) na idade adulta é nativa do Sul do Brasil, e ocorre desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (DONADIO *et al.*, 2002). É conhecida também pelos nomes populares de cerejeira, cerejeira-do-mato, cerejeira-da-terra, cereja-do-rio-grande, cereja-preta, ibaiba e ivaí (LORENZI, 2002).

Os frutos de *Eugenia involucrata* são próprios para consumo humano e muito saborosos. De coloração vermelha-amarelada, a polpa desses frutos é suculenta e agridoce. Esta espécie tem potencial para aproveitamento comercial, e seu fruto pode ser consumido *in natura*, ou ser utilizado para o processamento na forma de doces, geleias e sucos. A fruta apresenta ainda alta concentração de ácido ascórbico em sua composição possuindo ação antioxidante com alto potencial de aproveitamento na indústria cosmética e alimentícia (FRANZON, 2006).

O Brasil possui rica diversidade vegetal, no entanto, várias espécies frutíferas continuam subutilizadas e em muitos casos praticamente desconhecidas, apesar de apresentarem potencial de aplicação industrial. Por esse motivo deve-se ressaltar a importância dos estudos que buscam conhecer mais sobre a cinética e termodinâmica dessas espécies pouco exploradas, como no caso da cerejeira-do-mato.

**Figura 4** - *Eugenia involucrata* (cerejeira-do-mato).



Fonte:refloresteoplaneta.com.br

### 3.4 EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS

A escolha do método de extração de antocianinas depende da proposta de aplicação, no caso de aplicação industrial como é o foco do presente trabalho, é importante que seja um método simples, rápido, de baixo custo e que utilize solventes extratores de baixa toxicidade (FAVARO, 2008).

As antocianinas são moléculas polares devido à presença dos grupos hidroxilas, carboxilas, metoxilas e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos conferindo características que ajudam na extração e separação das antocianinas. Conseqüentemente, elas são mais solúveis em água do que em solventes não polares (HARBORNE, GRAYER, 1988).

A extração sólido-líquido é uma das técnicas mais usadas e envolve a remoção de um ou mais compostos de um alimento, empregando-se um líquido que é capaz de dissolver o soluto. O processo pode ser realizado em um ou múltiplos estágios, por um tempo predeterminado, para então, separar o solvente (FELLOWS, 2006). Para a remoção das antocianinas, em diferentes matrizes, este método de extração é o mais empregado (PERUZZO, 2014).

Em meio ácido, as antocianinas encontram-se predominantemente na forma de cátion flavílium, o qual apresenta coloração vermelha em solução aquosa (REVILLA *et al.* 1998). O fato do cátion flavílium ser estável em meio ácido torna indicável a utilização de solventes contendo ácidos orgânicos ou minerais na extração de antocianinas de frutas. No entanto, uso de solventes ácidos para a extração deve ser cauteloso, pois excesso de ácido pode levar à formação de antocianidinas e outros flavonoides por hidrólise (REVILLA *et al.* 1998).

Em estudos quantitativos, a hidrólise das antocianinas poderia gerar resultados superestimados da quantidade total de antocianinas presentes na espécie estudada, principalmente se o método de análise empregado for espectrofotométrico por quantificar somente antocianinas totais (REVILLA *et al.*, 1998). É recomendado usar ácidos fracos como o acético, fórmico e perclórico durante as extrações e deve-se monitorar a acidez durante o processo. Com metanol, o ácido cítrico é o mais efetivo ácido orgânico, seguido pelos ácidos tartárico, fórmico, acético e propiônico, nesta ordem. Se o processo de extração envolver a água, os melhores ácidos são ácido acético, cítrico, tartárico e hidrocloreídrico (HARBORNE, GRAYER, 1988).

Alguns trabalhos têm empregado também o uso de acetona para extração de antocianinas, com posterior secagem em rotaevaporador a 30°C. A principal vantagem da acetona como solvente extrator seria a maior facilidade de secagem dos extratos após o término

do processo de extração, por se tratar de um solvente mais volátil e conseqüentemente requerer uma temperatura de ebulição menor. Porém, a aplicação da acetona como em rotina industrial não é vantajosa devido a maior toxicidade e periculosidade quando comparada com solventes aquosos e alcoólicos (FAVARO, 2008).

Para algumas aplicações do extrato como, por exemplo, para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia, o uso de solventes como metanol e acetona são restritos não só pela toxicidade, mas também pelo alto custo e impacto ambiental dos resíduos gerados (JU, HOWARD, 2005). Diante das limitações de uso desses solventes, é determinado que a extração seja realizada com etanol ou água, embora a última apresente uma menor eficiência de extração em comparação aos outros solventes, além de uma menor durabilidade de seus extratos (TERCI, 2004).

Outro fator que influencia na quantidade de antocianinas extraída é a temperatura de extração. Elevá-la facilita a liberação das antocianinas dos vacúolos celulares das frutas, além de aumentar a permeabilidade do solvente nas estruturas celulares, aumentando assim a quantidade de antocianinas extraída e reduzindo o tempo de extração. No entanto, o aumento da temperatura não deve exceder 60°C, pois acentua a degradação posterior das antocianinas dos extratos obtidos. Recomenda-se assim, que a extração ocorra entre 25 e 55°C (SAMPAIO, 2008).

Tendo em vista a busca de um melhor rendimento de extração, o planejamento experimental é uma ferramenta útil para a análise, modelagem e otimização das condições operacionais de um sistema em estudo. A análise do planejamento experimental verifica a maneira como as variáveis do processo interagem entre si, quantifica aquelas que são significativas e reduz o esforço experimental (volume de ensaios) necessário para que se possa extrair o máximo rendimento do sistema. As técnicas de planejamento experimental têm encontrado larga aplicação não só para pesquisa, mas também para a indústria onde a competitividade das operações é medida pelas variáveis: qualidade, velocidade, confiabilidade, flexibilidade e, o mais importante, custo (SLACK, 1993).

### 3.5 QUANTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS

A quantidade e a identidade das antocianinas nos vegetais também estão relacionadas a fatores genéticos e ambientais, como: condições de cultivo, tempo de plantio, exposição à luz UV e método de colheita. Por esse motivo, a comparação de teores de antocianinas dentre diferentes culturas de um mesmo vegetal, como frutas, ou dentre culturas e vegetais diferentes

pode gerar resultados bastante distintos. Estudos indicam que, mesmo sob iguais condições de cultivo, crescimento e fertilização podem-se observar variações de identidade e quantidade das antocianinas (SYVACY e SÖKMEN, 2004).

Os métodos para quantificação das antocianinas encontram-se bem elucidados na literatura (TEIXEIRA *et al.*, 2008). O teor de antocianinas totais depende de vários fatores como: espécie, variedade, crescimento, estado fisiológico das plantas, aplicação de produtos químicos, etc. (FULEKI e FRANCIS, 1968).

Uma maneira usual de se expressar os resultados da determinação de antocianinas é em termos da quantidade absoluta total de antocianinas presentes num extrato particular estimando dessa maneira, o teor de antocianina expresso em mg de antocianinas/100 gramas de amostra (PERUZZO, 2014).

Segundo Fuleki e Francis (1968) a quantificação das antocianinas pode ser determinada por dois métodos espectrofotométricos sem que haja diferença significativa entre eles: Método de pH Único e Método de pH Diferencial onde as absorvâncias em ambos os métodos são monitoradas com o uso de um espectrofotômetro UV/VIS, efetuando-se leituras em um determinado comprimento de onda. A quantificação pelo método de pH único pode ser calculada pela da Equação 1.

$$AntT = \left( \frac{Absorvância \cdot PM \cdot fd}{\epsilon} \right) \cdot 1000 \quad (1)$$

Onde:

- AntT é a concentração de antocianinas totais expressas em mg de antocianinas/ 100g de amostra;
- Absorvância é a absorvância do extrato lida no comprimento de onda estabelecido;
- PM é a massa molar da antocianina em estudo;
- fd é o fator de diluição;
- $\epsilon$  é o coeficiente de extinção molar da antocianina em estudo no comprimento de onda estabelecido.

### 3.6 ESTABILIDADE

A estabilidade química das antocianinas é o foco principal de muitos estudos, devido ao grande potencial de aplicação, aos seus efeitos benéficos e ao seu uso como alternativa aos corantes artificiais nos alimentos (OTT, 1992).

A utilização de antocianinas na indústria de alimentos e cosméticos ainda é restrita devido à sua baixa estabilidade em meios aquosos e pH menos ácidos. Diferentes fatores comuns ao processamento de alimentos podem contribuir significativamente na degradação da cor deste corante natural, entre estes pode-se citar pH, temperatura, luz, oxigênio e enzimas (OTT, 1992).

O pH influencia na estabilidade das antocianinas; em meio ácido, a cor das antocianinas monoaciladas é determinada pela substituição no anel B da aglicona. Um aumento na coloração vermelha requer um maior grau de metoxilação, enquanto que a coloração azul exige maior grau de hidroxilação (OTT, 1992).

Durante o tratamento térmico, a estabilidade das antocianinas é bastante afetada pela temperatura. O mecanismo de degradação das antocianinas com a temperatura ainda não foi completamente elucidado. Alguns estudos indicam que durante o aquecimento o equilíbrio se desloca no sentido de formação das chalconas, resultando em um decréscimo das formas coloridas (FENNEMA, 2000), podendo favorecer a extração conjunta de ácidos fenólicos e taninos, além de complexos antocianídicos com proteínas, o que compromete a estabilidade dos extratos (JING e GIUSTI, 2007).

A temperatura de armazenamento também é um fator que influencia na degradação de antocianinas e no aparecimento de fungos nos extratos. Estudos indicam que extratos armazenados a baixas temperaturas são mais estáveis quando comparados àqueles armazenados à temperatura ambiente (JANNA, KHAIRUL, MAZIAH, 2007).

Nas frutas, as enzimas e seus substratos localizam-se em compartimentos celulares diferentes. Durante a maceração das frutas para dar início ao processo de extração de antocianinas, esses compartimentos são destruídos e as enzimas entram em contato com os compostos fenólicos, oxidando-os. Após certo período de armazenamento, esses extratos adquirem coloração fortemente castanha e turva, sendo difícil de preservar a cor inicial e a limpidez, o que compromete a qualidade do extrato para aplicações gerais (SAMPAIO, 2008).

Na tentativa de aumentar a estabilidade dos extratos de antocianinas, o uso de conservantes pode ser investigado buscando reduzir o tempo de degradação.

### 3.6.1 Uso de conservantes

De acordo com a Portaria nº 540 (BRASIL, 1997a), aditivo alimentar é todo e qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos sem propósito de nutrir, com objetivo de modificar características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, transporte ou manipulação de um alimento. Segundo esta mesma Portaria, aditivos conservadores são substâncias que impedem ou retardam a alteração dos alimentos. Em inúmeros países, os aditivos alimentares são usados amplamente, exercendo diferentes funções no produto final. Seu emprego é, entretanto limitado por legislações específicas, apoiadas em critérios restritivos que levam em consideração recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) (CUNHA *et al.*, 2003).

A escolha dos conservantes têm um papel importante no abastecimento de alimentos quimicamente estáveis e seguros. A demanda crescente por alimentos de conveniência e o shelf life razoavelmente longo exigido pelas cadeias de distribuição, tornam imperativo o uso de conservantes em alimentos processados. A escolha adequada de um conservante deve ser feita com base em alguns fatores, tais como a facilidade de manuseio, o impacto no paladar, o custo e a sua eficácia (BRITO, 2011).

A eficácia de um conservante pode ser influenciada pelo pH, composição do produto e pelo teor de água do alimento. Não existe conservante que seja eficaz para todos os tipos de alimentos (BRITO, 2011).

Segundo Wrolstad *et al.* (1990), a concentração elevada de açúcar estabiliza as antocianinas e este efeito pode ser explicado pelo fato de que a adição de açúcar, mesmo que em pequenas concentrações, reduz a atividade de água, e esse fato pode ter impacto sobre a estabilidade do pigmento.

Segundo Rubinskiene *et al* (2005), esteviosídeo, sacarose, frutose e aspartame podem ser usados como conservantes em extratos de antocianinas.

#### 3.6.1.1 Esteviosídeo

Os adoçantes dietéticos são, em sua maioria, compostos a partir de substâncias não calóricas, naturais ou sintética, conhecidas como edulcorantes. Estes edulcorantes são mais doces que o açúcar branco e responsáveis pelo sabor dos adoçantes de mesa (ANGELUCCI, 1986).

Das folhas de stévia (Figura 4) se extrai o esteviosídeo (Figura 4), edulcorante natural de sabor doce com poder adoçante 300 vezes maior que a sacarose. Tem boa estabilidade tanto em altas como em baixas temperaturas (ANGELUCCI, 1986). Pode ser consumida sem nenhuma contraindicação por qualquer pessoa e está entre os edulcorantes mais utilizados atualmente.

**Figura 5 - Stévia e esteviosídeo.**

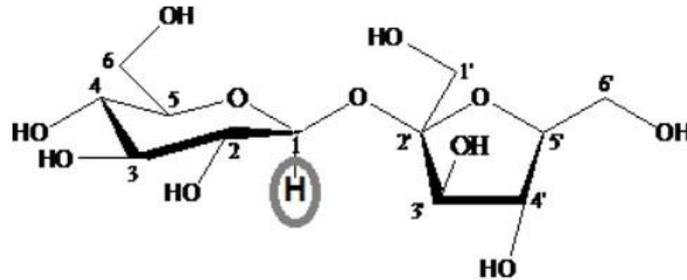


Fonte: Google imagens

### 3.6.1.2 Sacarose

A sacarose é um dissacarídeo formado por uma unidade de glicose unida a uma unidade de frutose através de uma ligação O-glicosídica proveniente da reação entre a hidroxila de uma glicose com o carbono anomérico de outra (LEHNINGER *et al.*, 2006). A Figura 5 mostra a sacarose e destaca o seu único hidrogênio anomérico, ligado ao carbono anomérico. Possui caráter acidogênico promovendo uma queda de pH, e se destaca entre os açúcares utilizados no mascaramento do sabor (NEVES *et al.*, 2006).

**Figura 6** - Estrutura molecular da sacarose com o hidrogênio anomérico em destaque.

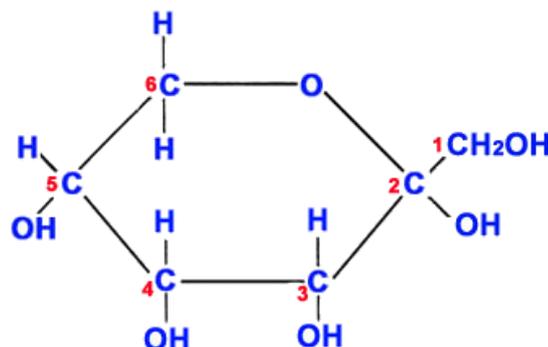


Fonte: NEVES *et al.*, 2006

### 3.6.1.3 Frutose

Considerada um importante carboidrato encontrado no organismo humano e na maioria das plantas, a frutose (Figura 6) é um monossacarídeo composto por seis átomos de carbono unidos em ligações covalentes simples, apresentando grupamentos hidroxila, formados por hidrogênio e oxigênio e um grupamento carbonila, formado por ligação dupla entre o carbono e o oxigênio. Seu nome é originário da palavra latina *fructus*, já que as frutas são importantes fontes de frutose (BARREIROS *et al.*, 2005).

**Figura 7** – Frutose.



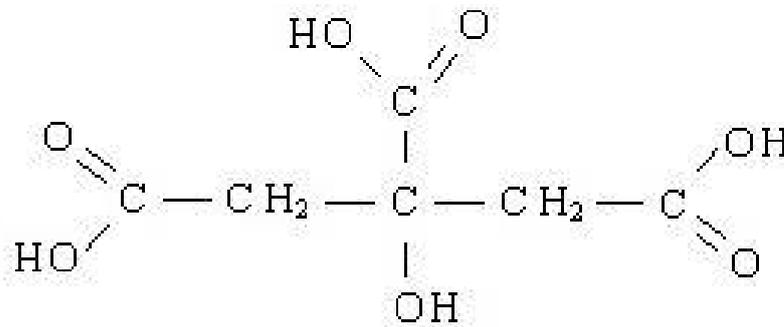
Fonte: NEVES *et al.*, 2006

### 3.6.1.4 Ácido cítrico

Também conhecido como citrato de hidrogênio, o ácido cítrico (Figura 7), de nome oficial ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico, é um ácido orgânico tricarboxílico presente

na maioria das frutas, sobretudo em cítricos, como o limão e a laranja. A acidez do ácido cítrico é devida aos três grupos carboxilas  $-\text{COOH}$  que podem perder um próton em soluções. Como consequência forma-se um íon citrato, que são bons controladores de pH de soluções ácidas. No processamento de frutas e vegetais, o ácido cítrico é usado para inibir reações enzimáticas e no rastreamento de oxidação de metal catalisado, o qual pode causar a deterioração da cor (BRITO, 2011).

**Figura 8 - Ácido cítrico.**



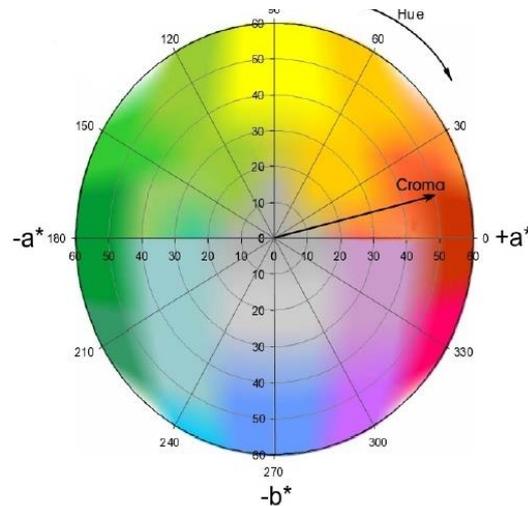
Fonte: BRITO, 2011

### 3.7 AVALIAÇÃO DA COR

A cor é um dos principais parâmetros a ser considerado uma vez que contribui com a preferência do consumidor em relação ao produto. A vantagem de usar os parâmetros de cor visual é que eles podem ser medidos instantaneamente usando colorímetros e indicados como controle de qualidade on-line durante o processamento térmico da indústria de alimentos (YANG *et. al.*, 2008).

O sistema CIE  $L^*a^*b^*$  (Figura 8) foi definido pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação) em 1976, avaliando os valores  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  e  $b^*$  (coordenadas de cromaticidade). Esse sistema permite registrar a luminosidade ( $L^*$ ) que possui escala de zero (preto) a 100 (branco), ou seja, quanto mais próximo de 100, mais branco é o produto. As coordenadas cromáticas  $a^*$  ( $+a^*$ , vermelho;  $-a^*$ , verde) e  $b^*$  ( $+b^*$ , amarelo;  $-b^*$ , azul), possibilitam calcular o ângulo Hue ( $h^\circ$ ) ou tonalidade. Quando os valores do ângulo Hue estão próximos de  $0^\circ$ , a cor é vermelha, próximos de  $90^\circ$  a cor é amarela, próximos de  $180^\circ$  são verde-azulados ou azuis quando próximos de  $270^\circ$  (MINOLTA 1993).

**Figura 9 - Sistema de coordenadas de cores CIELAB.**



Fonte: Minolta (1993).

As coordenadas mais comuns  $L^*$   $a^*$   $b^*$  não expressam a cor de forma direta e são difíceis de interpretar de forma independente, assim,  $C^*$  e  $h^\circ$  e TCD podem preferencialmente ser utilizados como índices de qualidade dos produtos alimentícios (MCGUIRE, 1992).

De acordo com Minolta (1993) o valor do croma ( $C^*$ ) e ângulo Hue ( $h^\circ$ ) são calculados através das Equações 2 e 3 e a diferença total de cor (TCD) pode ser calculada através da Equação 4.

$$C^* = \frac{((a^*)^2 + (b^*)^2)}{2} \quad (2)$$

$$h^\circ = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (3)$$

$$TCD = \sqrt{(L^*_0 - L^*)^2 + (a^*_0 - a^*)^2 + (b^*_0 - b^*)^2} \quad (4)$$

Onde:

- $L^*_0$ ,  $a^*_0$  e  $b^*_0$  são as leituras iniciais da cor, sem tratamento térmico;
- $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  são as leituras da cor em determinado tempo e temperatura.

### 3.8 CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS E DA COR

Prevenir a degradação de antocianinas é um aspecto muito importante que pode beneficiar os dois lados, consumidores e processadores. Dessa forma deve haver uma busca por minimizar as perdas de pigmentos durante o processamento, garantindo assim a qualidade do produto final. É difícil prever a perda de antocianinas individuais durante o processo de aquecimento, então para se poder ter uma maior compreensão da degradação térmica das antocianinas e prever as mudanças de qualidade que ocorrem durante o tratamento térmico é necessário investigar a cinética de degradação (HOU *et al.*, 2013; KARA & ERÇELEBI, 2013).

O uso de modelos matemáticos cinéticos que descrevam a cinética facilita consideravelmente a otimização, o design, a simulação e o controle de projetos industriais e contribui para uma melhor utilização do tempo e energia (SANT'ANNA *et al.*, 2012).

Kirca e Cemeroglu (2003) demonstraram que a degradação térmica de antocianinas segue uma relação linear entre a concentração destas e o tempo de estoque em determinada temperatura, seguindo assim, uma reação de primeira ordem. Wang e Xu (2007) descreveram a cinética de degradação de antocianinas presentes no suco de amora também como um modelo de cinética de primeira ordem.

Uma reação de primeira ordem é considerada aquela em que a velocidade é diretamente proporcional à concentração do reagente (LEVENSPIEL, 2000). Considerando uma reação irreversível, monomolecular e de primeira ordem a volume constante, com a condição inicial  $C_A = C_{A0}$  em  $t = 0$ , obtêm-se a Equação 5 (FOGLER, 2009):

$$\ln \frac{C_{A0}}{C_A} = k_d \cdot t \quad (5)$$

Onde:

- $C_A$  é a concentração de antocianinas em um determinado tempo, em  $\text{mg.mL}^{-1}$ ;
- $C_{A0}$  é a concentração inicial de antocianinas em  $\text{mg.mL}^{-1}$ ;
- $t$  é o tempo em h;
- $k_d$  é a constante cinética de degradação em  $\text{h}^{-1}$ .

O valor da constante de velocidade da reação ou constante cinética de degradação é o coeficiente angular da reta obtido através do gráfico de  $\ln \frac{C_{A0}}{C_A}$  em função do tempo (LEVENSPIEL, 2000; FOGLER, 2009).

Já o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) é o tempo necessário para que a concentração do composto considerado seja reduzida à metade do seu valor inicial. Segundo Fogler (2009), a meia-vida de uma reação de primeira ordem é dada pela Equação (6):

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_d} \quad (6)$$

Onde:

- $t_{1/2}$  é a meia-vida em h;
- $k_d$  é a constante cinética de degradação em  $h^{-1}$ .

A energia de ativação é a energia mínima que os reagentes precisam para que inicie a reação química. Esta energia mínima é necessária para a formação do complexo ativado. Quanto maior a energia de ativação mais lenta é a reação porque aumenta a dificuldade para que o processo ocorra (FOGLER, 2009).

O efeito da temperatura pode ser descrito pela equação de Arrhenius (Equação 7), com a energia de ativação dependendo de outras propriedades químicas e físicas do meio reacional. A reação de degradação pode seguir várias pseudo-ordens, dependendo das condições do meio (ASSIRY, SASTRY E SAMARANAYAKE, 2003).

$$k_d = A \cdot e^{\frac{-E_a}{R \cdot T}} \quad (7)$$

Onde:

- $k_d$  é a constante cinética de degradação em  $h^{-1}$ ;
- A é o fator de frequência em  $h^{-1}$ ;
- $E_a$  é a energia de ativação da reação de degradação em  $kJ \cdot gmol^{-1}$ ;
- T é a temperatura em K;
- R é a constante dos gases em  $kJ \cdot gmol^{-1} \cdot K^{-1}$ .

O tempo de redução decimal (D) corresponde ao tempo necessário para que ocorra uma redução de 10 vezes na concentração inicial do extrato a uma determinada temperatura, e quando se estuda a cinética de degradação térmica, faz-se necessário também o conhecimento desse parâmetro que é expresso através da Equação 8 (MERCALI *et al.*, 2013).

$$D = \frac{\ln(10)}{k_d} \quad (8)$$

Onde:

- D é o tempo de redução decimal em h;
- $k_d$  é a constante cinética de degradação em  $h^{-1}$ .

A Equação 9 mostra o intervalo de temperatura (Z) que ocasiona uma variação de 10 vezes na velocidade de degradação, ajustando-se o modelo aos dados experimentais por meio da análise de regressão linear (FONTAN *et al.*, 2012; MERCALI *et al.*, 2015).

$$\log D = \frac{1}{Z} \cdot T + B \quad (9)$$

Onde:

- T é a temperatura em °C;
- D é o tempo de redução decimal, relacionado com a temperatura T, em °C;
- B é o coeficiente linear, fornecido pela equação da reta.

O coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ), por sua vez, denota o quanto mais rápido uma reação ocorre quando a temperatura é elevada 10°C, e pode ser obtido através da Equação 10 (KECHINSKI *et al.*, 2010).

$$Q_{10} = \left( \frac{k_{dT2}}{k_{dT1}} \right)^{\left( \frac{10}{T2-T1} \right)} \quad (10)$$

Onde:

- $k_{dT1}$  é a constante cinética de degradação em relação à temperatura T1, em  $h^{-1}$ ;
- $k_{dT2}$  é a constante cinética de degradação em relação à temperatura T2, em  $h^{-1}$ ;
- T1 é a temperatura em °C;
- T2 é a temperatura em °C.

O sistema CIE L\*a\*b\* também pode ser utilizado para mostrar a degradação das antocianinas durante as mudanças de temperatura. A cor visual, que é um indicador de

concentração de pigmento, pode ser medida instantaneamente utilizando os colorímetros para esse controle e então obter-se os parâmetros cinéticos (YANG *et. al.*, 2008).

É difícil estabelecer um mecanismo de reação e obter um modelo cinético descrevendo o processo global de forma adequada. Existem inúmeras referências sobre a cinética da cor na literatura e a maioria relata que os modelos de degradação seguem ordem zero ou primeira ordem. As reações de alteração de cor consistem em duas fases. Na primeira fase ocorre a formação de um composto polimérico colorido e a cinética de degradação segue a ordem zero. No segundo estágio ocorre a decomposição dos polímeros coloridos em compostos não coloridos e a cinética segue a primeira ordem (KARA e ERÇELEBI, 2013).

Levando em consideração esta cinética combinada, a degradação da cor através da quantificação da concentração de antocianinas, pode ser modelada de acordo com a cinética de ordem zero para  $b^*$  e  $h^\circ$  e de acordo com a cinética de primeira ordem para  $C^*$ ,  $a^*$  e TCD e podem ser reescritas conforme as Equações 11 e 12 (KARA e ERÇELEBI, 2013; YANG *et. al.*, 2008).

$$\text{Parâmetro de cor} = k_d \cdot t \quad (11)$$

Onde:

- Parâmetro de cor é o parâmetro colorimétrico  $b^*$  ou  $h^\circ$  em um determinado tempo;
- $t$  é o tempo em h;
- $k_d$  é a constante cinética de degradação em  $h^{-1}$ .

$$\ln \frac{(\text{Parâmetro de cor})_0}{\text{Parâmetro de cor}} = k_d \cdot t \quad (12)$$

Onde:

- Parâmetro de cor  $_0$  é o parâmetro colorimétrico inicial  $C^*$ ,  $a^*$  ou TCD;
- Parâmetro de cor é o parâmetro colorimétrico  $C^*$ ,  $a^*$  ou TCD em um determinado tempo;
- $t$  é o tempo em h;
- $k_d$  é a constante cinética de degradação em  $h^{-1}$ .

### 3.9 RELAÇÃO ENTRE A COR E A CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS

Produtos contendo altos teores de antocianinas como é o caso das frutas vermelhas, durante o processamento e estocagem são susceptíveis à deterioração na cor resultante de feitos combinados da degradação de antocianinas e à formação de pigmentos escuros (SKREDE et al., 1992).

A dependência dos valores dos parâmetros de cor sobre o teor de antocianina foi descrita usando a relação linear representada pela Equação 13 (KARA e ERÇELEBI, 2013).

$$\frac{\text{Parâmetro de cor}}{\text{Parâmetro de cor}_0} = \beta_1 \cdot \left( \frac{\text{concentração de antocianina}}{\text{concentração de antocianina}_0} \right) + \beta_2 \quad (13)$$

Onde:

- Parâmetro de cor é o parâmetro colorimétrico C\*, h° ou TCD em um determinado tempo
- $\beta_1$  é o coeficiente angular da reta
- $\beta_2$  é o coeficiente linear da reta

### 3.10 TERMODINÂMICA DO PROCESSO DEGRADATIVO

Do ponto de vista termodinâmico do processo degradativo, as definições de entalpia e entropia de ativação e energia livre de inativação fornecem informações valiosas sobre a cinética de degradação térmica, e podem ser estimadas para reações que ocorrem em alimentos (KECHINSKI et. al., 2010).

A variação da entalpia de ativação ( $\Delta H$ ) (Equação 14) é uma função termodinâmica que reflete a capacidade de troca de calor do sistema com a vizinhança, e representa se o processo ocorre de forma endotérmica ou exotérmica. Se positiva, confere-se o estado endotérmico, que com o aumento da temperatura leva a um incremento na degradação e, se negativa, confere-se o estado exotérmico, com comportamento antagônico ao descrito anteriormente (BASTOS *et al.*, 2011). Segundo Mercali *et al.* (2013) e Mercali *et al.* (2015), o valor positivo calculado para o  $\Delta H$  representa um estado endotérmico entre o reagente e o complexo ativado, que produz um aumento da degradação com o aumento da temperatura. Como seu valor representa a medida

da barreira a ser quebrada para que as moléculas entrem em reação se o valor  $\Delta H$  for baixo, ele favorece a formação do complexo ativado.

$$\Delta H = Ea - R.T \quad (14)$$

Onde:

- $\Delta H$  é a variação da entalpia em  $\text{kJ.gmol}^{-1}$ ;
- $Ea$  é a energia de ativação da reação de degradação em  $\text{kJ.gmol}^{-1}$ ;
- $R$  é a constante dos gases ideais em  $\text{kJ.gmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ;
- $T$  é a temperatura em K.

A Primeira Lei da Termodinâmica não informa sobre o sentido preferencial do fluxo de calor ou sobre a fonte do mesmo, assim, seria útil que o sistema possuísse uma ou mais propriedades, as quais variassem em um determinado sentido, se essa mudança de estado for natural. Para isso, estabeleceu-se a Segunda Lei da Termodinâmica, que define a entropia ( $S$ ) como uma função de estado, que relaciona a capacidade de um sistema de trocar calor por unidade de temperatura e fornece a medida da tendência de desordem do universo. Dessa forma, a variação de entropia de ativação pode ser obtida através da Equação 15 (BASTOS *et al.*, 2011).

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad (15)$$

Onde:

- $\Delta S$  é a variação da entropia em  $\text{kJ.gmol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ;
- $\Delta H$  é a variação da entalpia em  $\text{kJ.gmol}^{-1}$ ;
- $\Delta G$  é a variação da energia livre de Gibbs em  $\text{kJ.gmol}^{-1}$ ;
- $T$  é a temperatura em K.

A terceira função termodinâmica permite prever a energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) que define se um processo é espontâneo ou não espontâneo e representa a diferença entre o estado ativado e os reagentes. A variação da energia livre de Gibbs de inativação pode ser determinada como expresso na Equação 16 (SMITH *et al.*, 2007).

$$\Delta G = -R.T.\ln\frac{k_d.h}{k_b.T} \quad (16)$$

Onde:

- $\Delta G$  é a variação da energia livre de Gibbs em  $\text{kJ.gmol}^{-1}$ ;
- $R$  é a constante dos gases ideais em  $\text{kJ.gmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ;
- $T$  é a temperatura em K.
- $k_d$  é a constante de degradação térmica em  $\text{h}^{-1}$ ;
- $h$  é constante de Planck, com valor igual a  $6,6262 \times 10^{-34}$  J.s;
- $k_b$  é constante de Boltzmann, com valor igual a  $1,3806 \times 10^{-23}$  J.K<sup>-1</sup>.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 COLETA DO MATERIAL

As cerejeiras-do-mato foram coletadas na cidade de Santo Antônio da Patrulha, RS, Brasil. As frutas foram acondicionadas em potes de plástico e congeladas à temperatura média de  $-11^\circ\text{C}$  no Laboratório de Cinética e Termodinâmica dos Processos Degradativos (LCTPD - FURG).

### 4.2 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

Para determinar as melhores condições para a extração das antocianinas foi efetuado um planejamento experimental. Primeiramente foram determinados os objetivos do experimento e a seleção das variáveis independentes a serem estudadas e suas respectivas faixas experimentais. Dois planejamentos fatoriais  $2^3$  com 3 pontos centrais foram utilizados para avaliar o impacto dos fatores sobre as respostas de modo a se obter a máxima eficiência no processo de extração. As condições experimentais utilizadas no procedimento de extração das antocianinas da cerejeira-do-mato para fruta com casca (A) e sem casca (B), estão expressas na Tabela 2.

As condições experimentais utilizadas no procedimento de extração das antocianinas da cerejeira-do-mato, para fruta com casa e sem casca, estão expressas na Tabela 3. Os pontos centrais foram a média entre os limites superiores e inferiores e para o solvente extrator, foi

utilizado 50% de cada um dos escolhidos para os níveis inferior e superior. As variáveis selecionadas, assim como seus limites tiveram como base o estudo realizado por Favaro (2008).

As frutas sem sementes foram trituradas mecanicamente em *mixer* (George Foreman). Em cada ensaio, 5g de cerejeira-do-mato foram submetidos à extração com 15 mL do solvente extrator na proporção de 1:3 (Favaro, 2008) em tubos de ensaio com tampa de rosca e foram mantidas em banho termostático (Novatecnica) para controle da temperatura.

**Tabela 2-** Matriz do planejamento experimental reproduzido para as duas condições: fruta com casca (A) e sem casca (B).

Ensaio	Temperatura	Tempo	Solvente
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
PC1	0	0	0
PC2	0	0	0
PC3	0	0	0

**Tabela 3** - Valores para os níveis codificados usados nos dois planejamentos fatoriais: fruta com casca (A) e sem casca (B).

Nível codificado	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Solvente
-1	25	30	Água
0	40	735	50% Água/ 50% Etanol 95%
+1	55	1440	Etanol 95%

### 4.3 QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

O teor das antocianinas foi determinado por método espectrofométrico descrito por Fuleki e Francis (1968). Após o tempo determinado, as amostras foram filtradas e o solvente

correspondente foi adicionado ao extrato até completar o volume de 50 mL. Uma alíquota de 1 mL do extrato foi adicionada a um balão volumétrico de 10 mL tendo o volume completado com o solvente extrator correspondente, formando dessa maneira, o extrato diluído. O pH da amostra foi ajustado para 3 com HCl 0,1%.

O comprimento de onda foi determinado a partir da análise feita em espectrofotômetro de varredura (Hitachi) de 400 a 600 nm utilizando um intervalo de 10 em 10 nm. Através dos picos obtidos pode-se observar que a antocianina presente em maior concentração no extrato foi verificada no comprimento de onda de 535 nm que corresponde a cianidina-3,5-glicosídeo. Deu-se continuidade às leituras de absorvância dos extratos em espectrofotômetro UV (Kasuaki), efetuando-se leituras em comprimento de onda de 535 nm, realizadas em triplicata. O solvente extrator foi utilizado como branco.

O conteúdo total de antocianinas foi expresso em mg de antocianinas/ 100g de amostra analisada e foi calculado de acordo com a Equação 1. A massa molar utilizada foi a da cianidina-3,5-glicosídeo, igual a 664,5 g/mol com o coeficiente de extinção molar de valor igual a  $1,25 \times 10^3$  L/mol.cm (FULEKI e FRANCIS, 1968). Avaliou-se qual ensaio apresentou maior concentração de antocianinas e determinou-se como padrão de extração para dar continuidade ao estudo.

Os resultados obtidos foram tratados por análise de variância seguida pelo teste de Tukey considerando um nível de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ). A análise estatística dos efeitos estimado de cada variável foi realizada considerando-se um nível de confiança de 90% ( $p < 0,1$ ). As superfícies de resposta foram obtidas utilizando-se o *software Statistica 5.0*.

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO COLORIMÉTRICA

As análises de cor foram realizadas em colorímetro (Minolta®, modelo CR400) seguindo o sistema de cores no espaço  $L^*a^*b^*$  (ou CIE  $L^*a^*b^*$ ). O instrumento foi calibrado com um azulejo padrão branco. Foram colocados em um bécker padrão 5mL do extrato a ser analisado com 5 mL de água destilada. O leitor foi submergido no extrato e os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram registrados. O valor do croma ( $C^*$ ), o ângulo de tonalidade (hue) e a diferença total de cor (TCD) foram calculados através das Equações 2, 3 e 4.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS E DA COR

Os estudos da cinética de degradação das antocianinas dos extratos de cerejeira-do-mato e dos extratos adicionados de conservantes foram conduzidos nas temperaturas de 10, 25, 50, 60, 70, 80 e 90°C.

Amostras de 5 mL do extrato puro foram mantidas em tubos de ensaio com tampa de rosca e foram submetidas às temperaturas de estudo e retiradas periodicamente até que atingissem a metade da concentração inicial, conforme mostra a Tabela 4.

**Tabela 4-** Intervalo de tempo de retirada de amostra para cada temperatura utilizado na determinação da cinética de degradação de antocianinas de cerejeira-do-mato.

<b>Temperatura</b>	10°C	25°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
<b>Intervalo de Tempo</b>	24 h	24 h	3 h	60 min	30 min	15 min	10 min

Paralelamente foi realizada a determinação da cinética de degradação da cor dos extratos adicionados de conservantes, selecionados com base nos estudos feitos por Rubinskiene (2005) e Perez-Ramírez (2015). A Tabela 5 mostra os conservantes utilizados e suas respectivas concentrações.

**Tabela 5 -** Conservantes utilizados no estudo da degradação

<b>Conservante</b>	<b>Concentração</b>	
<b>Esteviosídeo</b>	7,5 g/L	15 g/L
<b>Sacarose</b>	20 % (m/v)	40 % (m/v)
<b>Frutose</b>	20 % (m/v)	40 % (m/v)
<b>Ácido cítrico</b>	25 % (m/v)	50 % (m/v)

As concentrações estabelecidas foram determinadas seguindo a legislação vigente sobre o uso de conservantes.

##### 4.5.1 Constante cinética de degradação das antocianinas e da cor

A constante cinética de degradação do extrato de antocianina ( $k_d$ ) foi estimada através da regressão dos dados experimentais que correlacionam a concentração das antocianinas totais

com a concentração inicial ao longo do tempo, conforme a Equação 5, para cada temperatura estudada e para cada condição de extrato proposta.

A constante cinética de degradação da cor de ordem zero e primeira ordem foi estimada através da regressão dos dados experimentais que correlacionam os parâmetros colorimétricos do extrato com os parâmetros colorimétricos iniciais ao longo do tempo, conforme a Equação 11 e 12, para cada temperatura estudada e para cada condição de extrato proposta.

#### 4.5.2 Meia-vida

A meia-vida ( $t_{1/2}$ ) da concentração das antocianinas e da cor foi determinada para cada temperatura estudada e para cada condição de extrato proposta conforme a Equação 6.

#### 4.5.3 Energia de ativação da reação de degradação

A energia de ativação da reação de degradação ( $E_a$ ) das antocianinas e da cor foi determinada através da Equação 17. A partir da regressão linear do logaritmo das constantes cinéticas de degradação versus o inverso da temperatura ( $1/T$ ) foi possível obter o coeficiente angular da reta ( $A$ ).

$$E_a = A \cdot R \quad (17)$$

Onde:

- $E_a$  é a energia de ativação da reação de degradação em  $\text{kJ.gmol}^{-1}$ ;
- $A$  é o coeficiente angular da reta;
- $R$  é a constante dos gases em  $\text{kJ.gmol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ .

#### 4.5.4 Tempo de redução decimal

O tempo de redução decimal ( $D$ ) foi determinado para cada faixa de temperatura e para cada condição de extrato proposta, segunda a Equação 8.

#### 4.6 DETERMINAÇÃO DA TERMODINÂMICA DO PROCESSO DEGRADATIVO

A entalpia e a entropia de ativação assim como a energias livre de Gibbs de inativação foram determinadas segundo a Equação 14, 15 e 16, respectivamente, para o processo degradativo de cada condição de extrato estudada, na faixa de temperatura explorada.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados da constante de degradação térmica e da energia de ativação, foram tratados por análises de variância, seguida pelo teste de Tukey, considerando um nível de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

#### 4.8 RELAÇÃO ENTRE A COR E A CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS

A relação entre a cor e a concentração de antocianinas foi determinada de acordo com a Equação 13.

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 EXTRAÇÃO DAS ANTOCIANINAS

O indicativo da extração das antocianinas da cerejeira-do-mato se deu com base nos valores de absorvância em 535 nm. Este valor de comprimento de onda corresponde à absorvância máxima na região entre 400 e 600 nm, faixa esta onde ocorre a absorção do cátion flavílico, uma das formas de antocianina presentes na cerejeira-do-mato e muito estável em meio ácido. Os resultados observados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Concentração de antocianinas obtidas a partir dos planejamentos fatoriais 2<sup>3</sup> utilizando fruta com casca (A) e sem casca (B).

Ensaio	mg de ant/100g amostra	Ensaio	mg de ant/100g amostra
<b>1A</b>	21,97± 0,0020 <sup>f</sup>	<b>1B</b>	45,01± 0,0005 <sup>a</sup>
<b>2A</b>	69,82± 0,0005 <sup>b</sup>	<b>2B</b>	64,51± 0,0025 <sup>b</sup>

<b>3A</b>	51,39± 0,0047 <sup>bc</sup>	<b>3B</b>	20,02± 0,0025 <sup>c</sup>
<b>4A</b>	80,27± 0,0020 <sup>bd</sup>	<b>4B</b>	24,45± 0,0017 <sup>d</sup>
<b>5A</b>	330,65± 0,0026 <sup>e</sup>	<b>5B</b>	42,17± 0,0046 <sup>ae</sup>
<b>6A</b>	451,51± 0,0358 <sup>a</sup>	<b>6B</b>	45,36± 0,0015 <sup>aef</sup>
<b>7A</b>	230,36± 0,0028 <sup>g</sup>	<b>7B</b>	26,58± 0,0000 <sup>dg</sup>
<b>8A</b>	275,72± 0,0092 <sup>h</sup>	<b>8B</b>	20,91± 0,0005 <sup>ch</sup>
<b>PC1A</b>	128,12± 0,0040 <sup>i</sup>	<b>PC1B</b>	21,09± 0,0005 <sup>ci</sup>
<b>PC2A</b>	128,29± 0,0015 <sup>i</sup>	<b>PC2B</b>	22,50± 0,0005 <sup>i</sup>
<b>PC3A</b>	135,03± 0,0020 <sup>i</sup>	<b>PC3B</b>	25,69± 0,0005 <sup>i</sup>

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$

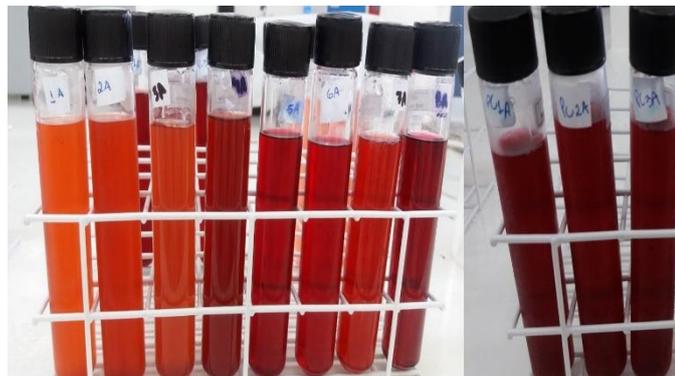
Através dos dados obtidos, pode-se observar que os ensaios onde foi utilizada a fruta com casca apresentaram as maiores concentrações, mostrando que a maior quantidade de antocianinas está presente na casca e não na fruta, porém fazer a extração utilizando apenas a casca se tornaria inviável devido à dificuldade da sua remoção.

O ensaio que apresentou maior quantidade de antocianina/ 100 g de amostra foi o ensaio 6A (451,50 mg de antocianina/ 100 g de amostra) e o mesmo apresentou diferença estatística de todos os outros ensaios. Esse resultado foi obtido para fruta com casca à temperatura de 55 °C no tempo de 30 minutos utilizando etanol como solvente extrator. Favaro (2008) utilizou etanol acidificado (85:15) para extrair antocianinas de casca de jabuticaba, amora e amora preta e obteve resultados inferiores, encontrando 40, 153 e 83 mg de antocianinas/ 100 g de amostra, respectivamente. Ao extrair antocianinas de *cramberries* utilizando etanol, Fuleki e Francis (1968) obtiveram 55,85 mg/ 100 g de amostra. Kuskoski *et al.* (2006) analisou polpas de frutas congeladas e detectou o teor de antocianinas em amora, uva, açaí, goiaba, morango e acerola que foram respectivamente: 41,8; 30,9; 22,8; 2,7; 23,7; 16,0 mg/100 g de amostra, extraídas com etanol. O conteúdo de antocianinas em todos esses estudos foi inferior ao encontrado cerejeira-do-mato, e com isso pode-se concluir que a mesma é uma fonte rica em antocianinas.

**Figura 10** - Extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato obtidos a partir do planejamento experimental da fruta com casca.



**Figura 11** – Extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato obtidos a partir do planejamento experimental da fruta sem casca.



A variação do conteúdo de antocianinas nas polpas pode ser elucidada por meio das diferentes metodologias de análise. A metodologia proposta por Fuleki e Francis (1968) ou por Lee e Francis (1972) emprega-se apenas um comprimento de onda, o de absorção máxima. Devido a isso, pode-se promover uma superestimação do teor de antocianinas encontrado, pois compostos de degradação também são quantificados. A variação se deve também à instabilidade das antocianinas frente a fatores que podem ocorrer durante o processo de congelamento da polpa, tais como incorporação de oxigênio, incidência de luz e temperatura, conforme citado por Ribeiro e Seravalli (2004).

A Tabela 7 mostra a análise dos efeitos das variáveis de entrada e de suas interações de 2º ordem, sobre a resposta desejada para a fruta com casca, já que a mesma apresentou maiores concentrações de antocianinas como apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 7** - Efeitos calculados para o planejamento fatorial  $2^3$  utilizando fruta com casca.

<b>Efeitos principais</b>	
Temperatura (T)	60,73*
Tempo (t)	-59,05*
Solvente (S)	266,20*
<b>Efeito de interação</b>	
(T)(t)	-23,61
(T)(S)	22,37
(t)(S)	-79*

\* $p < 0,10$  (significante com 90% de confiança)

Segundo Neto *et al.* (2013), o efeito de qualquer fator sobre uma resposta pode ser verificado fazendo com que o fator mude de nível, ou seja, avaliando a resposta com base na mudança de um determinado fator. Para um nível de confiança de 90%, os efeitos de temperatura, tempo e solvente sobre a concentração de antocianinas extraídas da cerejeira-domato se mostraram estatisticamente significativos assim como o efeito de interação entre as variáveis tempo e solvente. A temperatura e o solvente de extração exerceram efeitos positivos sobre a resposta concentração de antocianinas, ou seja, houve um aumento da variável de saída quando essas variáveis de entrada aumentaram dos níveis inferiores para os superiores. Contudo, o tempo de extração mostrou o comportamento contrário, exercendo um efeito negativo sobre a resposta. A análise dos efeitos reflete exatamente nas condições do ensaio 6A, onde obteve-se maior concentração de antocianinas utilizando-se o etanol como solvente extrator, a 55 °C e durante 30 minutos.

A partir da regressão dos dados, foi avaliado um modelo matemático de forma a determinar a concentração de antocianinas/ 100 g de amostra em função das variáveis de entrada significativas. Dessa forma, a Equação 18 representa a resposta codificada para a concentração de antocianinas ( $AntT$ ) de acordo com o tempo ( $t$ ) e a temperatura ( $T$ ) de extração e o solvente ( $S$ ) extrator, assim como também com a interação entre o tempo e o solvente extrator, dentro das faixas estudadas. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) obtido para o modelo foi de 0,97.

$$AntT = 173,01 + 30,37 T - 29,53 t + 133,10S - 39,49 tS \quad (18)$$

A análise de variância (ANOVA), mostrada na Tabela 8, cujo teste F mostrou que o F calculado foi 6 vezes superior ao seu valor tabelado, validou estatisticamente o modelo e permitiu a construção das superfícies de resposta (Figura 10). Assim sendo, os resíduos não são significativos frente à regressão e o modelo pode ser usado para fins de predição (NETO *et al.*, 1996).

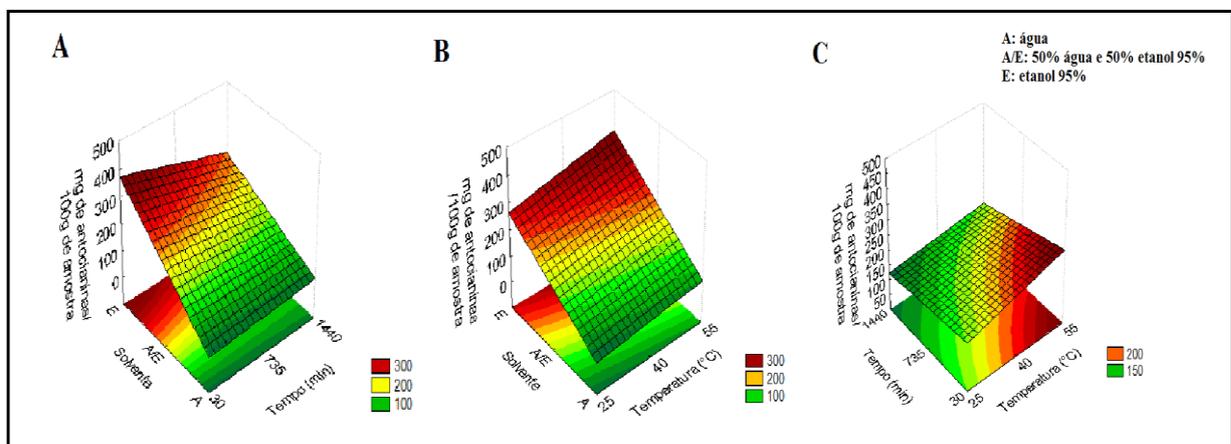
**Tabela 8** - ANOVA para a concentração das antocianinas extraídas da cerejeira-do-mato.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F calculado
Regressão	168553,1	4	42138,27	25,26
Resíduo	10009	6	1668,17	
Erro puro	10009	6		
Total	178562,1	10		

\*Coeficiente de determinação:  $R^2=0,97$ ; F tabelado (6;4) = 4,01

Segundo a Figura 12A, ficou explícito que utilizando-se o etanol como solvente extrator, quanto menor o tempo de extração, maior a concentração de antocianinas extraídas da fruta (A), dentro dos limites estudados. Ainda, segundo a Figura 12B, para esse mesmo solvente extrator, quanto maior a temperatura, maior foi a concentração do flavonoide desejado, enquanto que de acordo com a Figura 12C, um aumento da temperatura estudada concomitante à redução do tempo de extração, tendeu a aumentar a concentração de antocianinas da cereja-do-mato, delimitado pelos valores explorados para as variáveis estudadas.

**Figura 12** - Superfícies de resposta para solvente X tempo (A), solvente x temperatura (B) e tempo x temperatura (C).

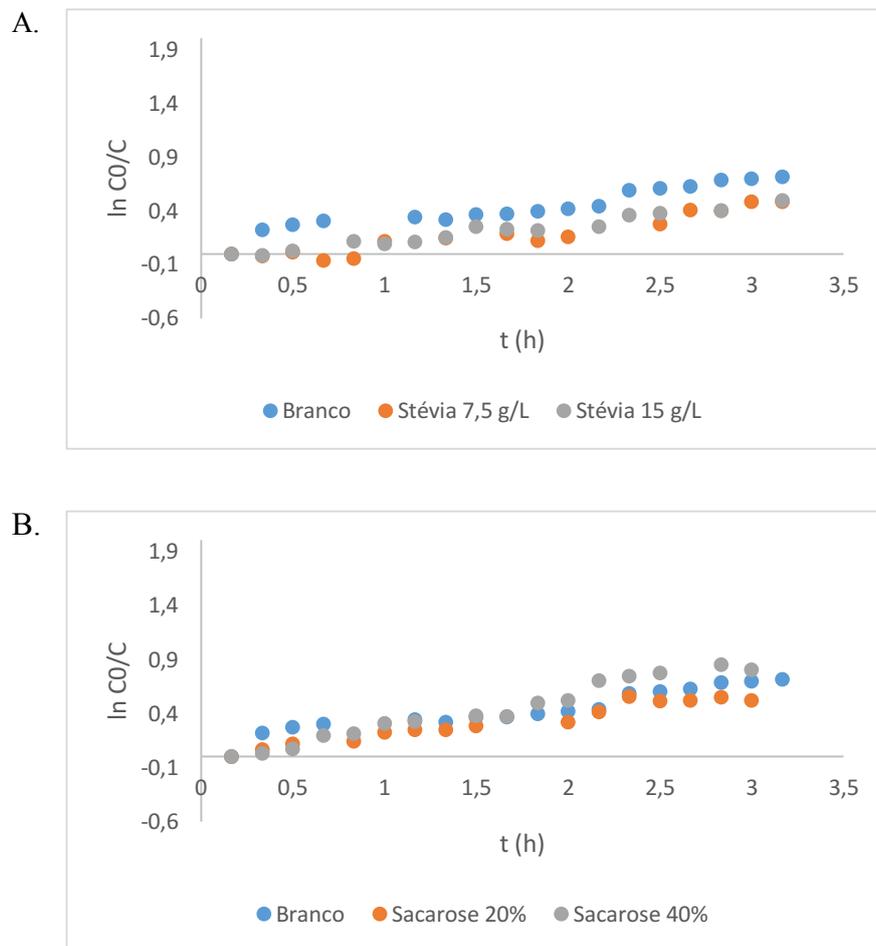


## 5.2 DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS PARA AS CONDIÇÕES DE EXTRATO PROPOSTAS

Amostras para cada condição de extrato proposta (puro e com adição de conservantes) foram submetidas a temperaturas de 10, 25, 50, 60, 70, 80 e 90°C, de modo a se obter as constantes de degradação ( $k_d$ ), a meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e o tempo de redução decimal (D) determinados através das Equações 5, 6 e 8 respectivamente.

As concentrações obtidas através da leitura das absorvâncias foram utilizadas para graficar  $\ln \frac{C_{A0}}{C_A}$  em função do tempo, como mostram as Figuras 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19 (A, B, C e D) para cada condição de extrato proposto. Dessa forma foi possível determinar os valores de  $k_d$  relacionados para cada temperatura na qual foram submetidos assim como verificar visualmente que os ajustes dos dados indicam um modelo cinético de primeira ordem.

**Figura 13** - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C.



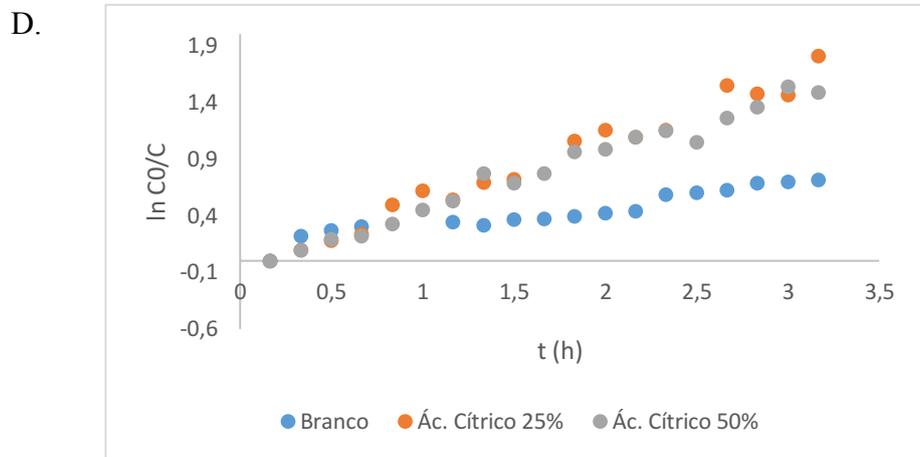
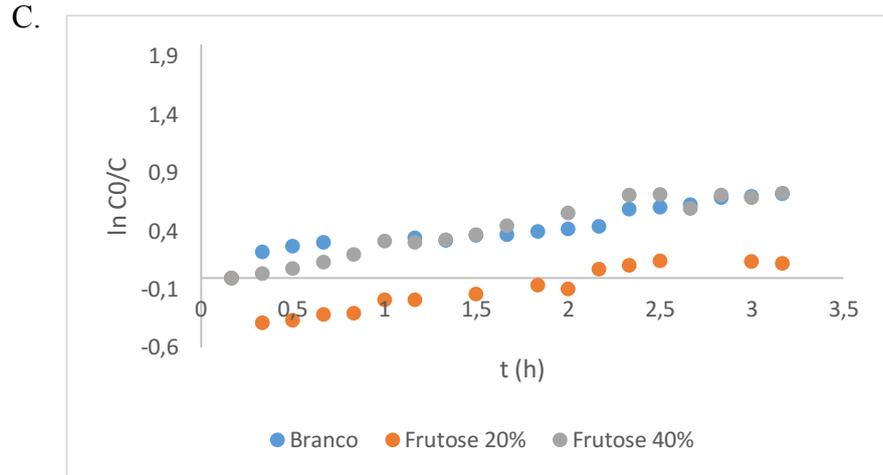
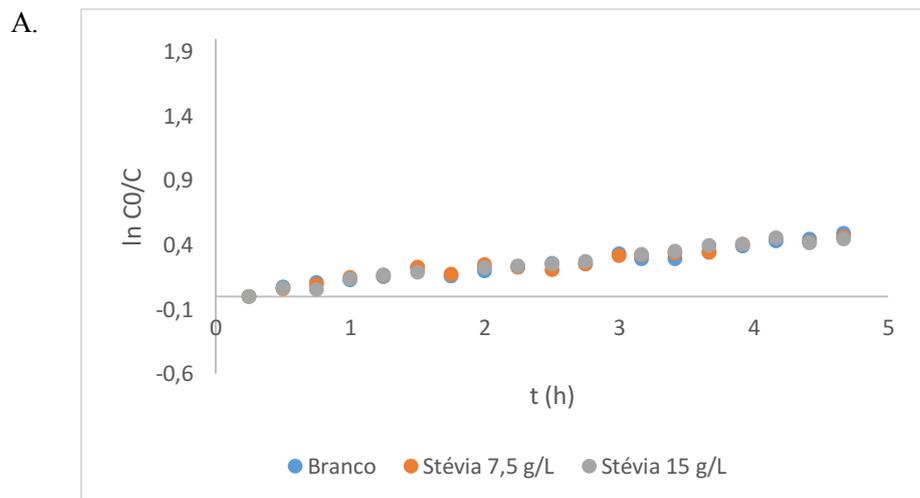
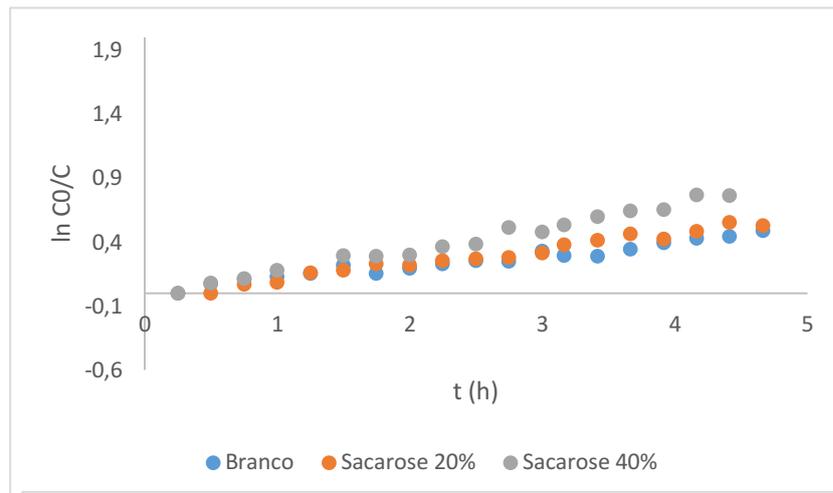


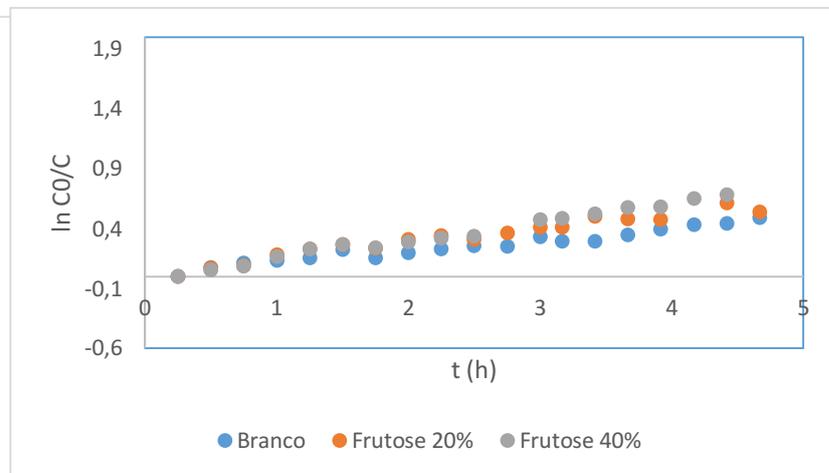
Figura 14 - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C.



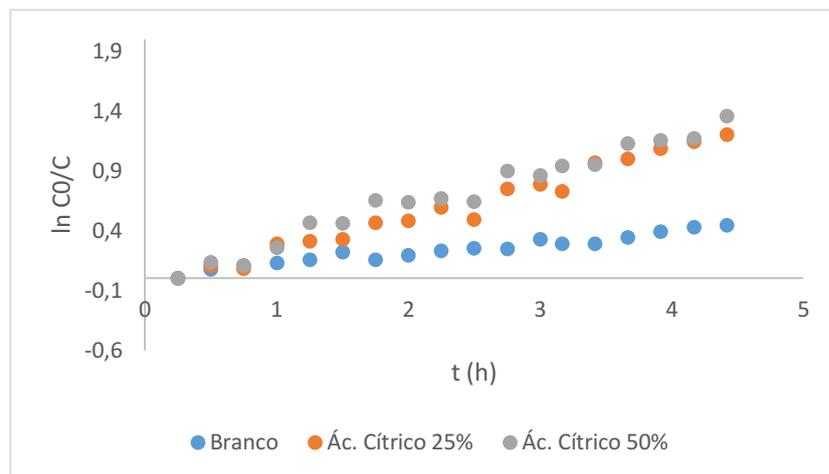
B.



C.

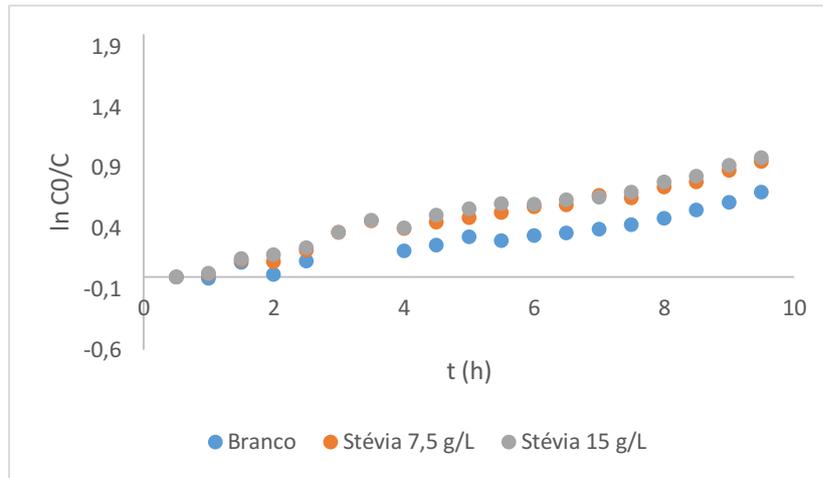


D.

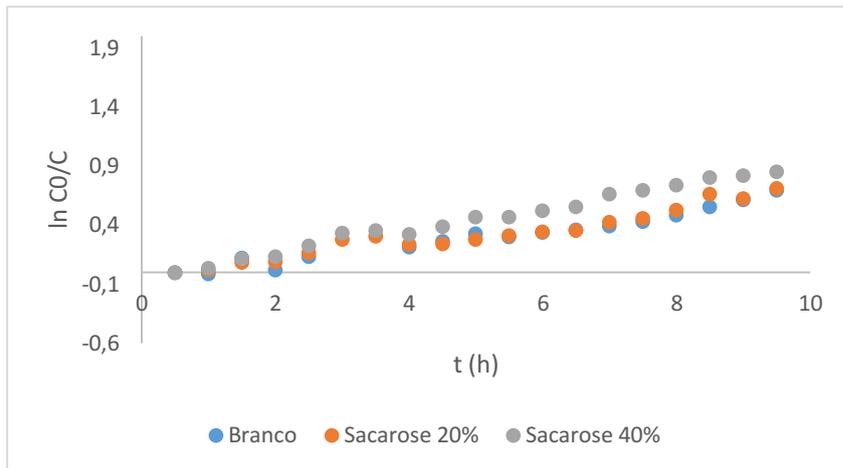


**Figura 15** - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C.

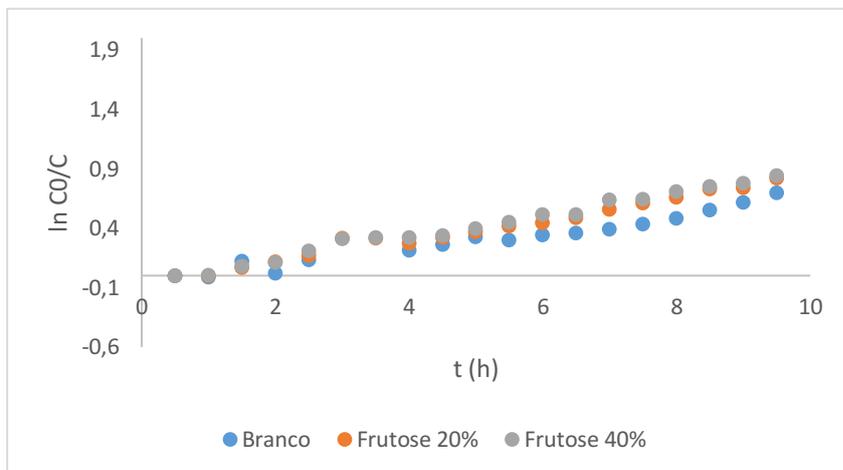
A.



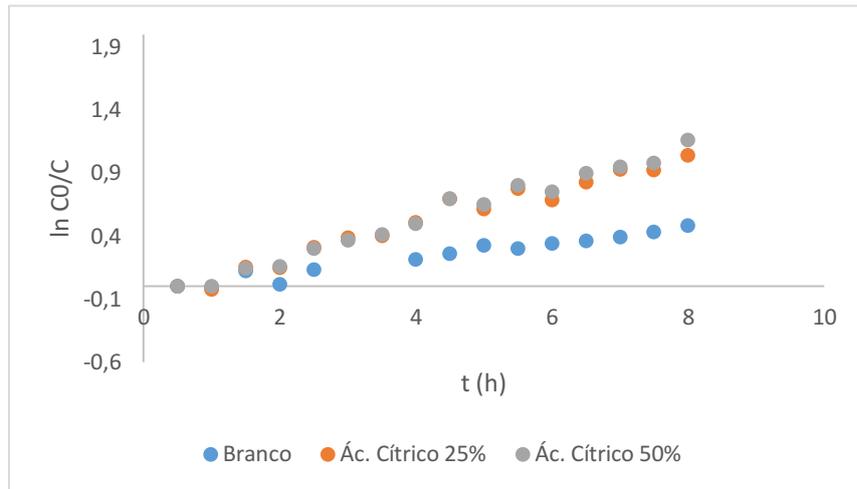
B.



C.

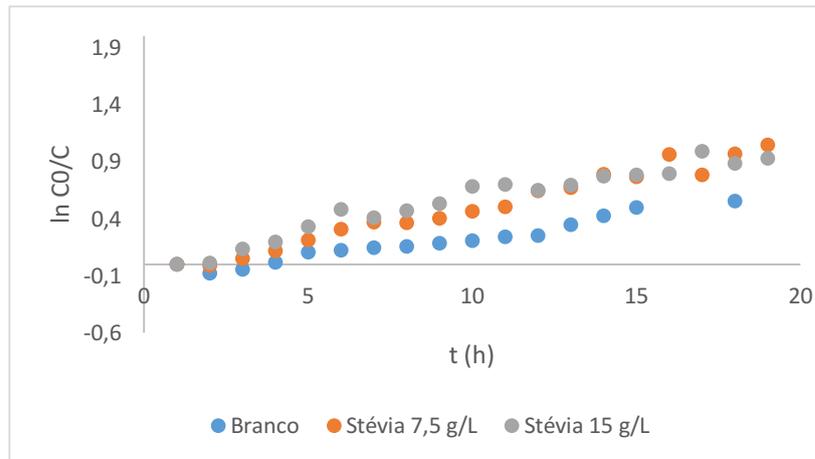


D.

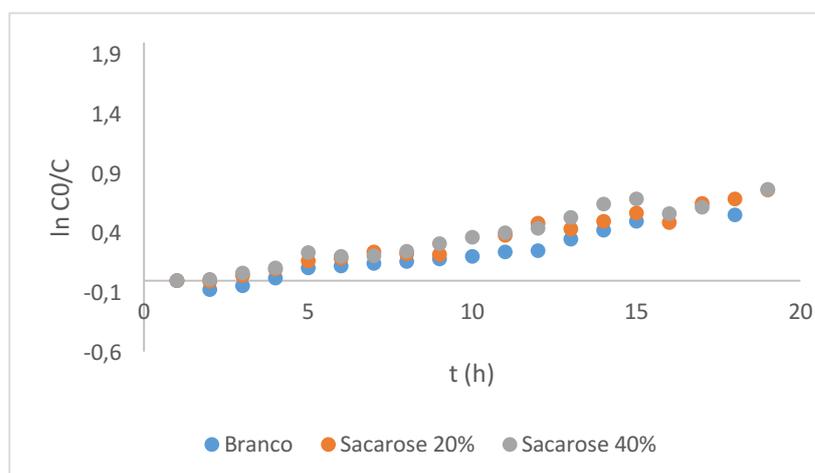


**Figura 16** - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 60°C.

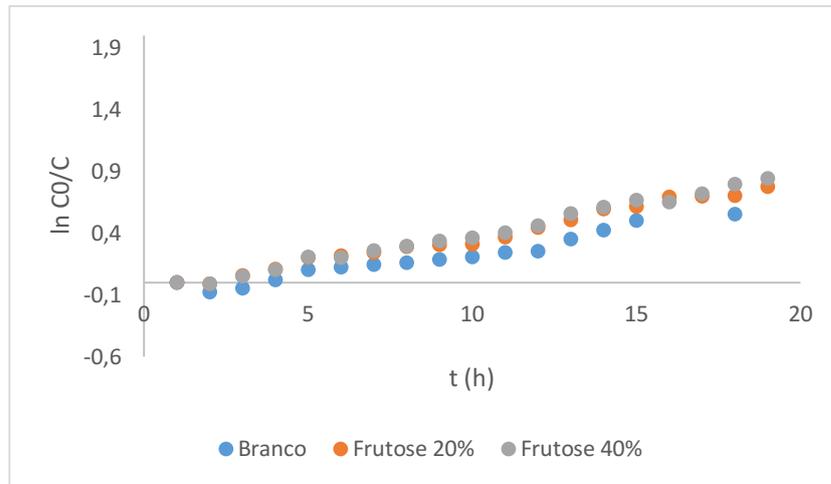
A.



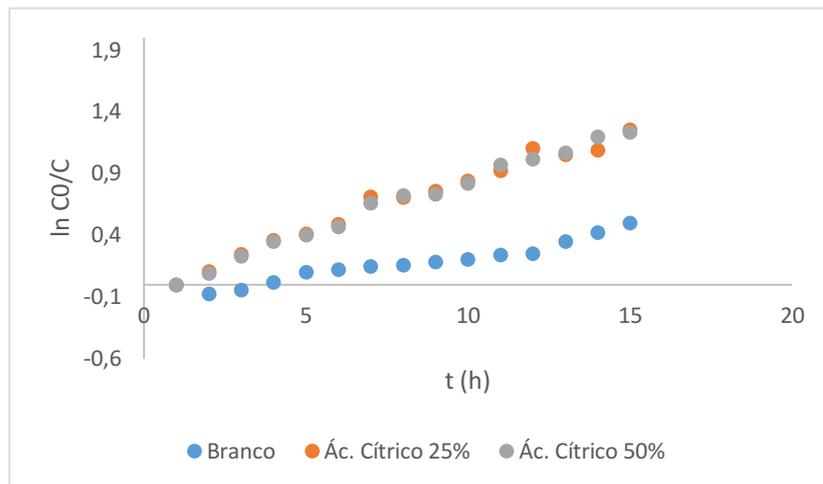
B.



C.

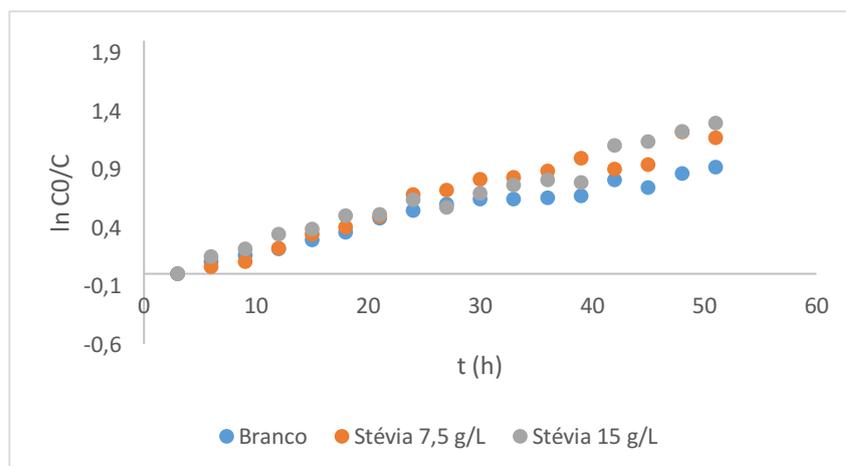


D.

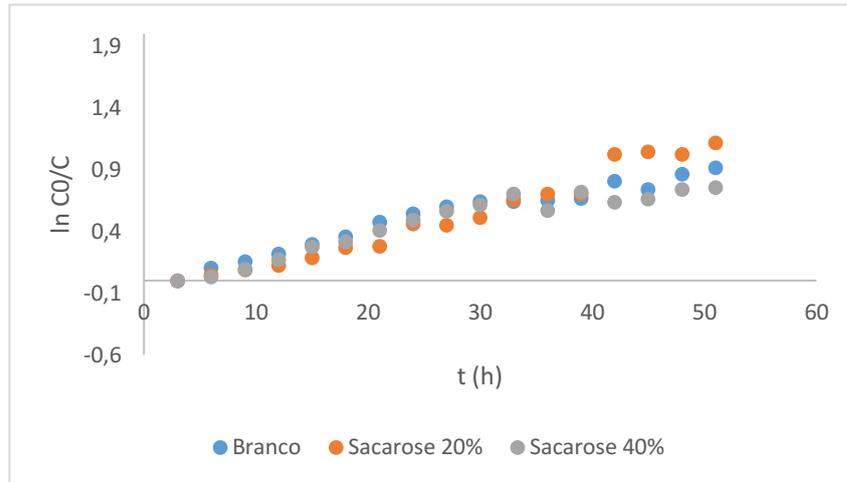


**Figura 17** - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C.

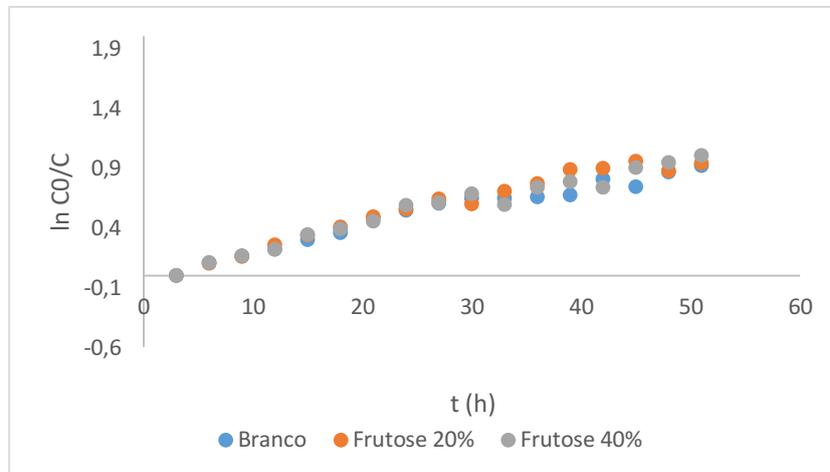
A.



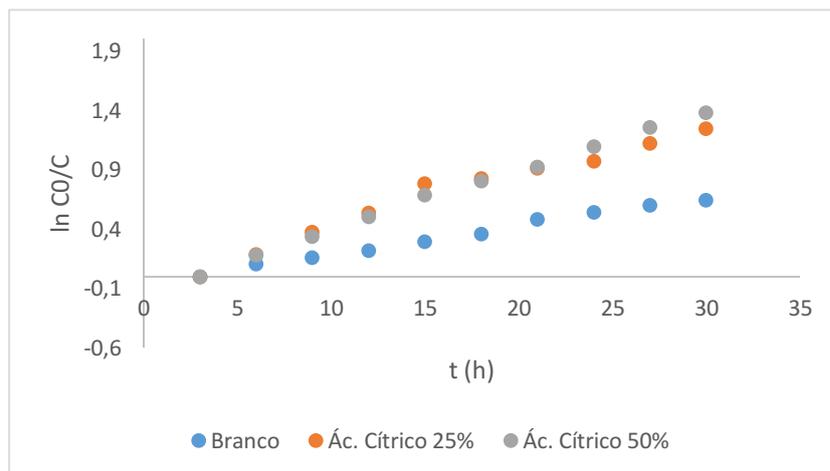
B.



C.

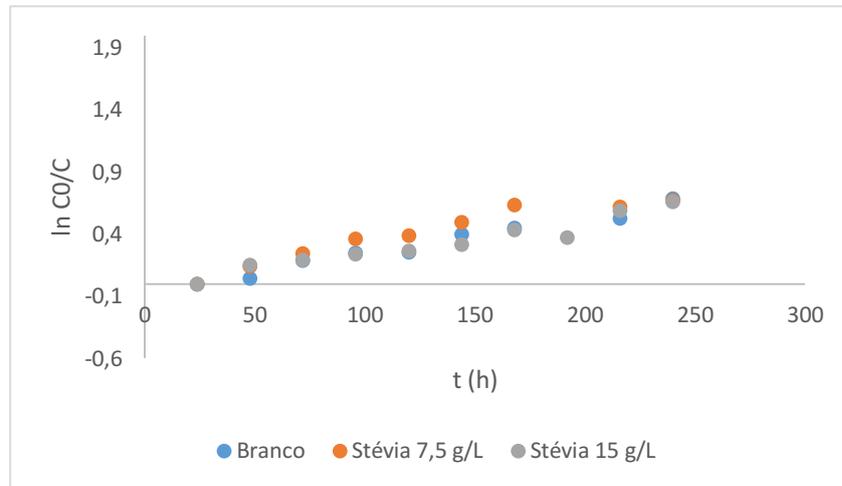


D.

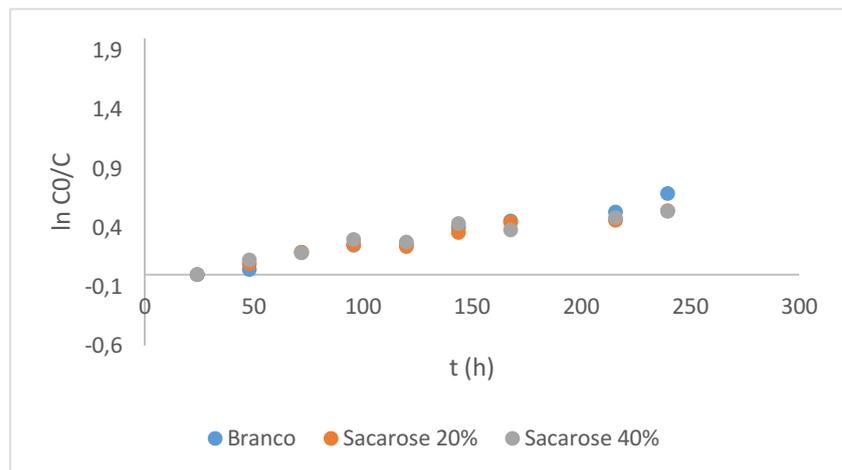


**Figura 18** - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C.

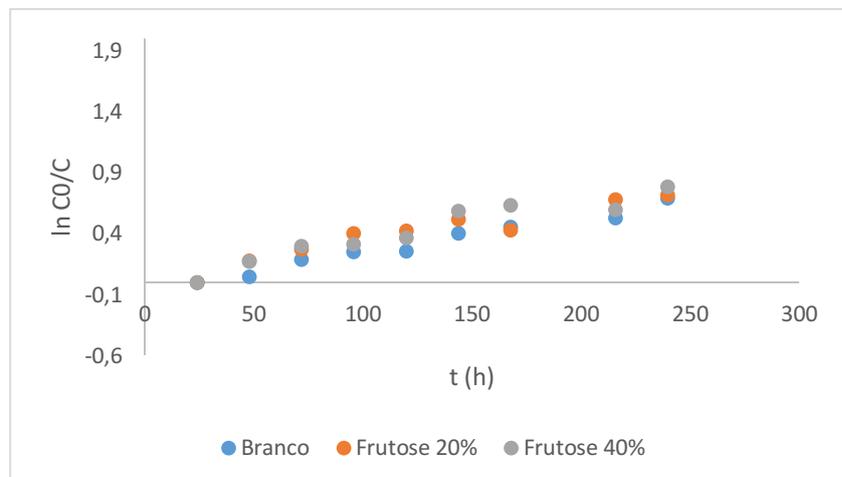
A.

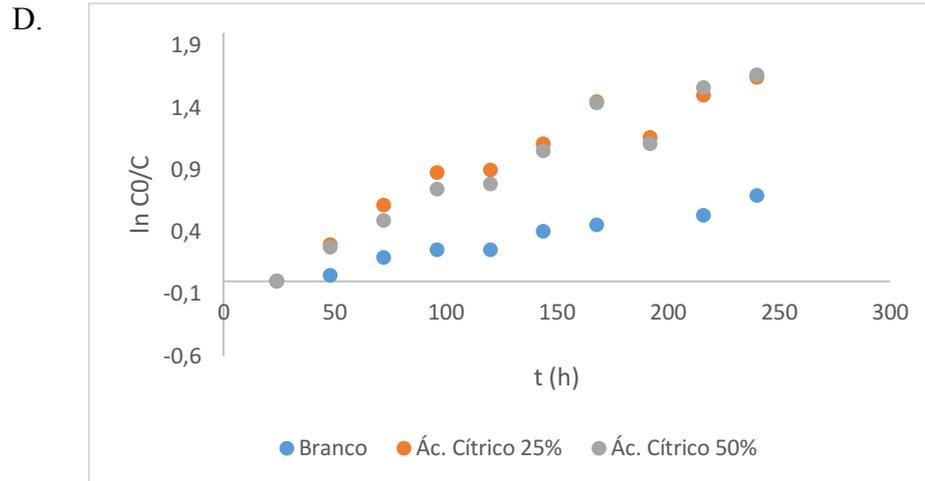


B.

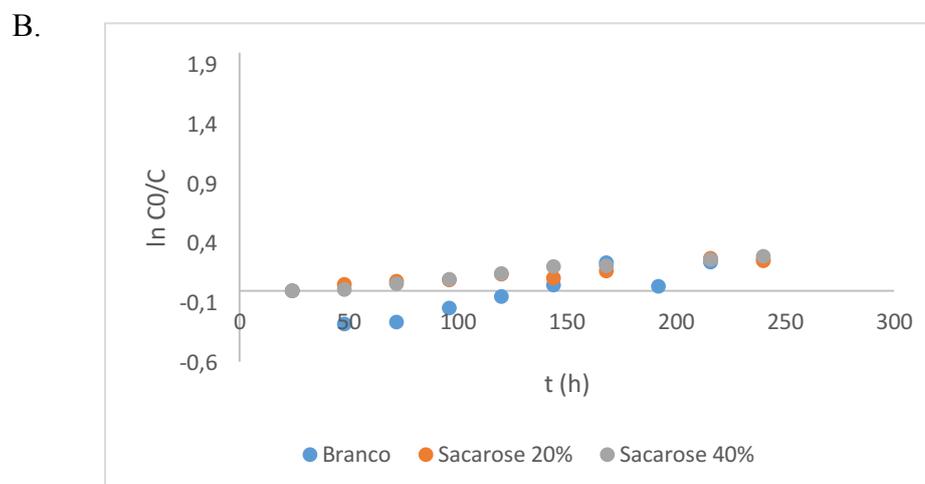
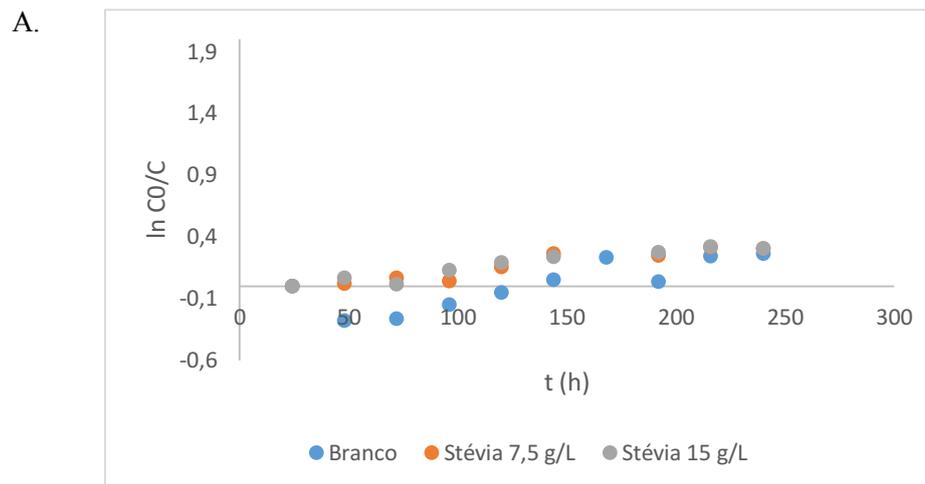


C.

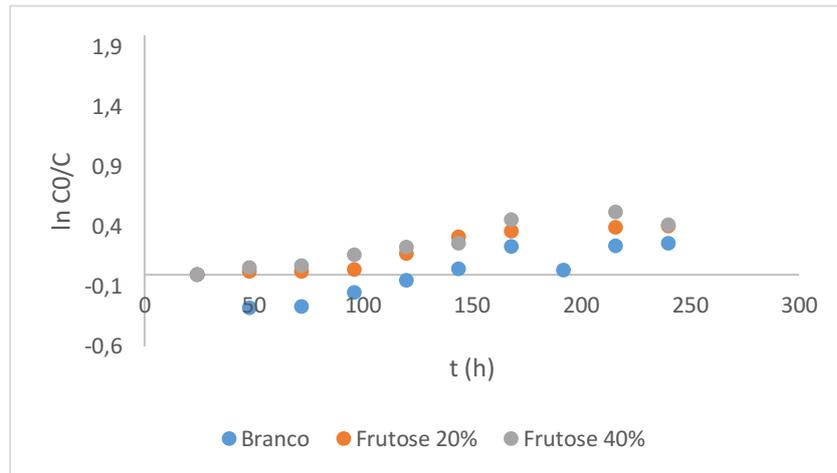




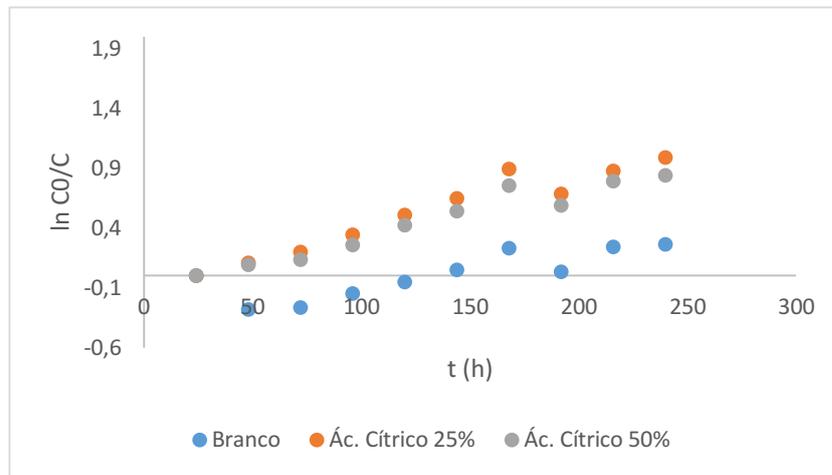
**Figura 19** - Degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C.



C.



D.



Os valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), da meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e do tempo de redução decimal (D) estão apresentados nas Tabelas 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15 assim como os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), que confirmam o modelo cinético de primeira ordem. Estes dados estão de acordo com vários autores que observaram o comportamento da degradação de antocianinas no intervalo de tempo entre 40 e 90°C, como Markakis *et al.* (1956), Wang e Xu (2007) e Harbourne *et al.* (2008), que relataram que a cinética de primeira ordem é o modelo mais adequado para ser utilizado em extratos de frutas.

**Tabela 9** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C.

AMOSTRA	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	D(h)
<b>Branco</b>	$0,180 \pm 0,000^a$	3,854	0,90	12,792
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	$0,180 \pm 0,000^a$	3,854	0,90	12,792

<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,160 ± 7,07E <sup>-08</sup> f	4,336	0,90	14,391
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	0,180 ± 0,000 <sup>a</sup>	3,854	0,95	12,792
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	0,324 ± 0,000 <sup>b</sup>	2,141	0,97	7,107
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	0,216 ± 0,000 <sup>e</sup>	3,212	0,94	10,660
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	0,252 ± 0,000 <sup>d</sup>	2,753	0,95	9,137
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	0,720 ± 0,000 <sup>c</sup>	0,963	0,98	3,198
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	0,360 ± 0,000 <sup>b</sup>	1,927	0,98	6,396

\*Letras iguais indicam que não há diferença significativa entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 10** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C.

<b>AMOSTRA</b>	<b><math>k_d</math> (h<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>t_{1/2}</math> (h)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>D(h)</b>
<b>Branco</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,95	21,320
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,95	21,320
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,97	21,320
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,97	21,320
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	0,180 ± 0,000 <sup>bc</sup>	3,859	0,99	12,792
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	0,126 ± 7,07E <sup>-08</sup> ad	5,620	0,95	18,655
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	0,162 ± 7,07E <sup>-08</sup> cd	4,336	0,98	14,391
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	0,288 ± 0,000 <sup>b</sup>	2,409	0,98	7,995
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	0,288 ± 0,000 <sup>b</sup>	2,409	0,97	7,995

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 11** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C.

<b>AMOSTRA</b>	<b><math>k_d</math> (h<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>t_{1/2}</math> (h)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>D(h)</b>
<b>Branco</b>	0,072 ± 0,000 <sup>b</sup>	9,635	0,96	31,980
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,97	21,320
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,97	21,320
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	0,072 ± 0,000 <sup>b</sup>	9,635	0,94	31,980
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,99	21,320
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	0,072 ± 0,000 <sup>b</sup>	9,635	0,98	31,980
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	0,108 ± 0,000 <sup>a</sup>	6,423	0,99	21,320

<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	0,144 ± 0,000 <sup>c</sup>	4,817	0,98	15,990
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	0,144 ± 0,000 <sup>c</sup>	4,817	0,98	15,990

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 12** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 60°C.

AMOSTRA	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	D(h)
<b>Branco</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,95	63,960
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,072 ± 0,000 <sup>b</sup>	9,635	0,97	31,980
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,95	63,961
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,97	63,961
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,96	63,961
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,98	63,961
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,99	63,961
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	0,072 ± 0,000 <sup>b</sup>	9,635	0,98	31,980
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	0,072 ± 0,000 <sup>b</sup>	9,635	0,99	31,980

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 13** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C.

AMOSTRA	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	D(h)
<b>Branco</b>	0,018 ± 0,000 <sup>cd</sup>	38,539	0,96	127,921
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,025 ± 0,000 <sup>ab</sup>	27,528	0,96	91,372
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,025 ± 0,000 <sup>ab</sup>	27,528	0,97	91,372
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	0,025 ± 0,000 <sup>ab</sup>	27,528	0,97	91,372
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	0,016 ± 7,07E <sup>-07d</sup>	43,356	0,92	143,912
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	0,021 ± 0,000 <sup>bc</sup>	32,116	0,96	106,601
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	0,018 ± 0,000 <sup>cd</sup>	38,539	0,97	127,921
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,97	63,961
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	0,036 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,269	0,99	63,961

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 14** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C.

AMOSTRA	$k_d$ (h <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (h)	R <sup>2</sup>	D(h)
<b>Branco</b>	0,00306 ± 7,07E <sup>-08</sup> a	227,487	0,96	755,092
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,00306 ± 7,07E <sup>-08</sup> a	227,487	0,92	755,092
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,0027 ± 7,07E <sup>-08</sup> ab	258,074	0,93	856,616
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	0,00252 ± 0,000 ab	275,278	0,95	913,724
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	0,00234 ± 7,07E <sup>-08</sup> b	298,218	0,92	989,868
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	0,00306 ± 7,07E <sup>-08</sup> a	227,487	0,90	755,092
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	0,00324 ± 0,000 a	214,105	0,91	710,674
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	0,0072 ± 0,000 c	96,347	0,92	319,803
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	0,0072 ± 0,000 c	96,347	0,94	319,803

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 15** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ), meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e tempo de redução decimal (D) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C.

AMOSTRA	$k_d$ (h <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (h)	R <sup>2</sup>	D(h)
<b>Branco</b>	0,00306 ± 7,07E <sup>-08</sup> a	227,487	0,87	755,092
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,00162 ± 7,07E <sup>-08</sup> bc	433,564	0,88	1439,116
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,00144 ± 0,000 b	481,737	0,92	1599,017
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	0,00126 ± 7,07E <sup>-08</sup> b	562,027	0,91	1865,520
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	0,00144 ± 0,000 b	481,737	0,96	1599,017
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	0,00234 ± 7,07E <sup>-08</sup> ac	298,218	0,90	989,868
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	0,00252 ± 0,000 ac	275,278	0,90	913,724
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	0,0036 ± 0,000 a	192,695	0,94	639,607
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	0,0036 ± 0,000 a	192,695	0,94	639,607

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

Na temperatura de 90°C (Tabela 9), os extratos adicionados de 20% de sacarose (m/v) e 7,5 g/L de esteviosídeo não reduziram a degradação do extrato visto que as constantes cinéticas de degradação obtidas não apresentaram diferença estatística significativa em relação ao valor obtido para o extrato branco, apresentando para estas condições uma meia-vida igual a 3,85 h. O único ensaio que apresentou um aumento na meia-vida foi quando houve adição de

15 g/L de esteviosídeo ao extrato, que correspondeu a 11,11% de aumento se comparado com a obtida para o branco. Conseqüentemente, foi o ensaio que apresentou o maior tempo de redução decimal (D) e menor constante cinética de degradação ( $k_d$ ).

Na temperatura de 80°C (Tabela 10), o extrato branco e os adicionados de esteviosídeo (7,5 e 15 g/L), 20% de sacarose (m/v) apresentaram uma meia-vida igual a 6,42 h e a adição de e 20% de frutose (m/v) apresentou uma meia-vida igual a 5,62 h. Já a adição dos outros conservantes influenciou negativamente o processo degradativo, ocasionando a diminuição da meia-vida e do tempo de redução decimal e um aumento no coeficiente cinético de degradação em 40% quando adicionado 40% de sacarose (m/v) e 62,5% quando adicionado 25 e 50% de ácido cítrico (m/v). Wang e Xu (2007) obtiveram uma meia-vida de 4,7 h quando submeteram as antocianinas do extrato de amora preta (*Rubus fruticosus L.*) à temperatura de 80°C, valor inferior a 6,42 h, obtido quando submetido o extrato de cerejeira-do-mato a mesma temperatura.

O contrário aconteceu quando cada condição de extrato proposto foi submetida a temperatura de 70°C (Tabela 11). A adição do esteviosídeo (7,5 e 15 g/L), 20% de sacarose (m/v) e de 20% de frutose (m/v) aos extratos mostrou diferenças estatísticas em relação a meia-vida do branco, assim como a adição de 40% de frutose (m/v) e 25 e 50% de ácido cítrico (m/v), apresentando uma diminuição da meia-vida em 50% quando adicionado o ácido cítrico nas duas concentrações e em 33,33% quando adicionados os demais conservantes. Rubinskiene *et al.* (2005), estudaram a termoestabilidade das antocianinas extraídas de groselha-preta à 70°C utilizando três percentuais (m/v) - 10, 20 e 40 % de sacarose e frutose concluindo que quantidades iguais ou superiores a 40% dos adoçantes ocasionaram um efeito positivo na estabilidade do pigmento. Contudo, a adição de frutose reduziu essa termoestabilidade, assim como no estudo em questão.

Quando cada condição de extrato proposto foi submetida a temperatura de 60°C (Tabela 12), a adição de 7,5 g/L de esteviosídeo e 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) ocasionou uma redução de 50% na meia-vida (9,64 h) quando comparado ao extrato branco. Kara e Erçelebi (2013) obtiveram a meia-vida igual a 8,3 horas ao estudar a termoestabilidade de extrato de amora. Para a mesma temperatura todas as condições de extrato proposto apresentaram valores superior, variando entre 9 e 19,26 h.

Com o decréscimo da temperatura pode-se observar um aumento na meia-vida e no tempo de redução decimal assim como a diminuição cinética de degradação. Isso é visto claramente através das Tabelas 12, 13 e 14 que apresentaram os resultados para cada condição de extrato proposto quando submetidos às temperaturas de 50, 25 e 10°C respectivamente.

Na temperatura de 50°C (Tabela 13), os extratos adicionados de 40% de sacarose e frutose (m/v), assim como o branco, apresentaram um aumento na meia-vida entre 28 e 50% frente aos outros conservantes utilizados.

A adição de 40% (m/v) de sacarose no extrato fez com que houvesse um aumento de 31,09% na meia-vida frente ao branco quando o extrato foi submetido a temperatura de 25°C (Tabela 14), conseqüentemente apresentou maior tempo de redução decimal e menor constante cinética de degradação. Os valores de  $k_d$  dos outros ensaios não apresentaram diferença estatística exceto o ensaio com a adição de 25 e 50% (m/v) de ácido cítrico, que ocasionou na redução da meia-vida em 57,65% se comparado com o branco. Bordignon *et al.* (2007), ao estudar a degradação do extrato de antocianinas de uva na temperatura de 27°C, obteve uma meia-vida igual a 931 h, valor bem superior frente aos encontrados para todas as condições de extrato proposto na temperatura de 25° C.

Os ensaios analisados na temperatura de refrigeração (10°C) (Tabela 15) apresentaram valores inferiores aos encontrados por Bordignon *et al.* (2007), que obteve uma meia-vida igual 1514 h para o extrato de antocianinas de uva. Contudo, a utilização de 7,5 e 15 g/L de esteviosídeo e de 20 e 40% de sacarose (m/v) gerou um aumento na meia-vida em até 147,06%.

O tempo de redução decimal (D) diminuiu com o acréscimo de temperatura, para todas as condições de extrato avaliados, comportamento este observado também por Mercali *et al.* (2013), para antocianinas de polpa de acerola extraídas com água nas temperaturas de 75 a 90°C. Como o processo degradativo se intensifica à medida que a temperatura aumenta, é justificável que o tempo para que ocorra a redução na concentração inicial seja maior para as temperaturas mais baixas.

Segundo Wrolstad *et al.* (1990) as antocianinas tornam-se mais estáveis nas frutas quanto maior a concentração de açúcares devido à redução da atividade de água ocasionada por esse conteúdo. Então a adição destes ou de adoçantes podem reduzir a atividade de água da solução de antocianinas e, dessa forma, propiciar um aumento da estabilidade dos extratos na presença de frutose e sacarose.

Perez-Ramírez *et al.* (2015) explicaram o aumento da meia-vida ocasionado pela incorporação do esteviosídeo, que diminui a formação de chalconas de cor castanha durante as condições de armazenamento em baixas temperaturas, devido a uma redução na atividade da água, que desloca o equilíbrio de desidratação em relação ao cátion flavílium pela remoção de água, retardando assim a sua taxa de hidratação.

Em todas as temperaturas estudadas foi possível observar que os ensaios adicionados de 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) no extrato foram os que apresentaram menores meia-vida e

maiores constantes de degradação térmica. Isso pode ser explicado pelo fato de que a incorporação de ácido cítrico pode induzir a degradação das antocianinas devido à redução do pH, ocasionando uma rápida hidratação do cátion flavílium, resultando na formação do carbinol que é incolor (PATRAS *et al.*, 2010). Neste estudo, a incorporação das diferentes concentrações de ácido cítrico levou a uma redução de pH de 3,0 para 0,2 e 0,8.

A duração e a temperatura de aquecimento têm uma forte influência na estabilidade das antocianinas. Altas temperaturas ocasionam a formação de chalconas, como consequência da abertura do anel de pirilium na molécula de antocianina, este último seria clivado para produzir a chalcona, que, devido à sua termolabilidade, degrada-se instantaneamente em um ácido fenólico e um aldeído (MARKAKIS *et al.* 1956).

A presença de ácido ascórbico na composição da cerejeira-do-mato (FRANZON, 2006), pode ser a principal causa da baixa estabilidade das antocianinas e devido à ocorrência de reações eletroquímicas, principalmente eletrólise da água, que libera no meio oxigênio, catalisando a oxidação desses compostos (DE ROSSO E MERCADANTE, 2007; MERCALI, 2013). Mercali (2013), ao analisar a degradação de antocianinas de polpa de acerola, fruta rica em ácido ascórbico, obteve tempos de meia-vida entre 40,6 e 117,5 h durante o tratamento térmico, sendo que os mesmos estão dentro da faixa dos valores encontrados para as antocianinas de cerejeira-do-mato.

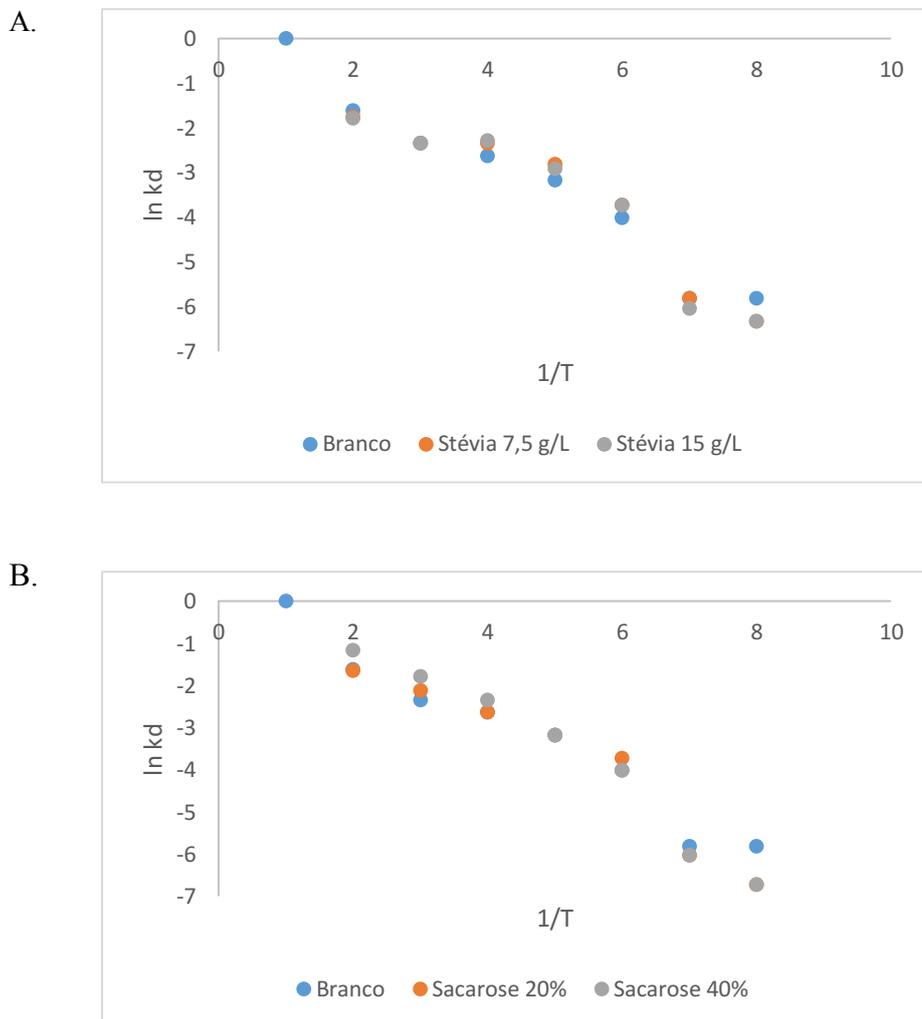
Três mecanismos diferentes foram propostos para explicar a degradação de antocianinas na presença de ácido ascórbico. A primeira sugere que o peróxido de hidrogênio formado pela oxidação do ácido ascórbico oxida os pigmentos de antocianina e os degrada durante o tratamento térmico (SONDHEIMER E KERTESZ, 1948). O segundo mecanismo, proposto por Jurd (1972), consiste na condensação direta de ácido ascórbico sobre o carbono 4 da molécula de antocianina, causando a perda de ambos os compostos. Por outro lado, de acordo com Iacobucci e Sweeny (1983), a degradação da antocianina na presença de ácido ascórbico ocorre devido à clivagem oxidativa do anel de pirílio por um mecanismo de radicais livres no qual o ácido ascórbico atua como um ativador de oxigênio, produzindo radicais livres.

O comportamento da degradação das antocianinas extraídas da cerejeira-do-mato também pode ser atribuído à predominância da cianidina. Como a mesma possui um grupo maior de hidroxilas, essas são capazes de liberar uma maior quantidade de prótons H<sup>+</sup> no meio reacional. Dessa forma, o equilíbrio se deslocará no sentido de formação do cátion flavílium, influenciando na velocidade da reação de degradação (CABRITA *et al.*, 2014).

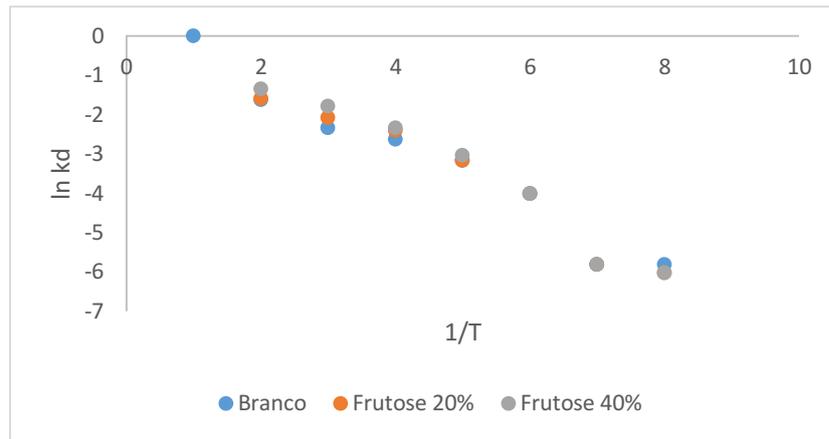
A dependência da temperatura com a degradação das antocianinas, que causam a perda da cor, pode ser observada correlacionando-se o inverso das temperaturas com o logaritmo das

constantes cinéticas de degradação térmica para cada condição de extrato proposto (Figura 20 A, B, C e D) e gera o fator de frequência (A) utilizado para determinação da energia de ativação da reação de degradação e são apresentados na Tabela 16.

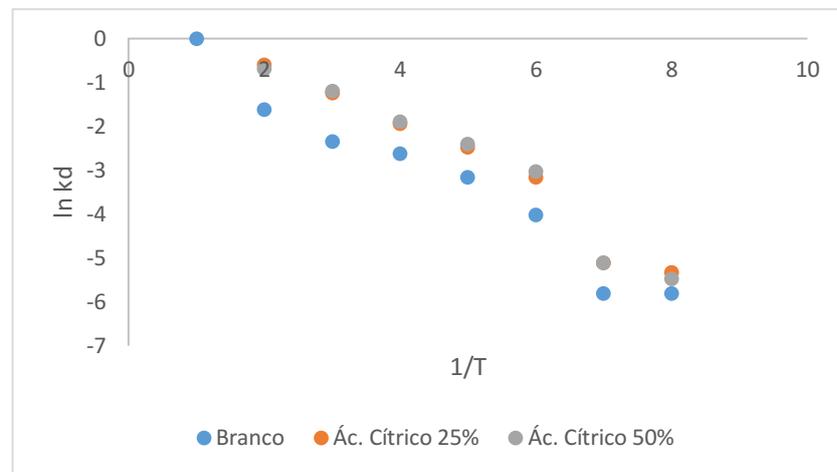
**Figura 20** - Dados experimentais das constantes de degradação térmica ( $k_d$ ) em função da temperatura para o cálculo da energia de ativação da reação de degradação ( $E_a$ ) através da equação de Arrhenius para cada condição de extrato proposta.



C.



D.



**Tabela 16** - Valores de energia de ativação da reação de degradação ( $E_a$ ) para cada condição de extrato proposta.

AMOSTRA	$E_a$ (kJ/mol)	$R^2$
<b>Branco</b>	$-47,364 \pm 0,255^e$	0,96
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	$-54,231 \pm 0,852^{ab}$	0,97
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	$-54,332 \pm 0,393^{ab}$	0,98
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	$-55,337 \pm 0,1623^a$	0,99
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	$-61,148 \pm 0,609^d$	0,98
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	$-51,024 \pm 0,372^c$	0,98
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	$-53,169 \pm 0,647^{abc}$	0,97
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	$-55,746 \pm 0,000^a$	0,98
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	$-51,967 \pm 0,000^{bc}$	0,99

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

De acordo com Heldman (2011b), as energias de ativação para a degradação das antocianinas variam de 35 a 125 kJ/mol. Os resultados obtidos na Tabela 16 confirmam essa afirmação e evidenciaram que a adição de conservantes nos extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato aumentaram em até 28,37% a energia de ativação, como no caso da adição de 40% de sacarose (m/v). Isso corresponde a necessidade de uma maior energia para ativar a reação de degradação térmica quando comparado ao extrato branco, evidenciando um processo degradativo mais lento. Um alto valor de energia de ativação indica uma forte dependência da temperatura, o que significa que a reação ocorre mais lentamente a baixa temperatura, e é relativamente mais rápida em altas temperaturas.

Para a reação de degradação das antocianinas de polpa de acerola extraídas com água em uma faixa de temperatura de 75 a 90°C, Mercali *et al.* (2013) determinou uma energia de ativação igual 74,8 kJ/mol.

Kirca e Cemeroglu (2003) determinaram uma energia de ativação para a reação de degradação das antocianinas do suco de laranja-de-sangue extraídas com etanol, para uma faixa de temperatura de 70 a 90°C, igual a 89,5 kJ/mol. Essa diferença nos valores encontrados pode ser explicada por vários fatores, como as diferentes características das frutas de estudo e até mesmo o solvente utilizado na extração.

A partir dos valores das constantes cinéticas utilizando-se a Equação 10, foi possível calcular o coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ). Os resultados são apresentados nas Tabelas 17, 18 e 19.

**Tabela 17** - Valores calculados de coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) para cada condição de extrato proposta na faixa de temperatura de 50 a 70°C.

AMOSTRA	$Q_{10}$
<b>Branco</b>	2,000
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	1,291
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	2,070
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	1,690
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	2,594
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	1,826
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	2,449
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	2,000
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	2,000

**Tabela 18-** Valores calculados de coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) para cada condição de extrato proposta na faixa de temperatura de 50 a 90°C.

AMOSTRA	$Q_{10}$
<b>Branco</b>	1,778
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	1,635
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	1,590
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	1,645
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	2,119
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	1,778
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	1,934
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	2,115
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	1,778

**Tabela 19 -** Valores calculados de coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) para cada condição de extrato proposta na faixa de temperatura de 70 a 90°C.

AMOSTRA	$Q_{10}$
<b>Branco</b>	1,581
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	1,290
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	1,223
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	1,581
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	1,732
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	1,732
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	1,528
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	2,236
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	1,581

O coeficiente de temperatura denota o quanto mais rápido uma reação ocorre quando a temperatura é elevada de 10°C. Ao estudá-lo para a degradação das antocianinas dos extratos de uva extraídos com etanol, Kirca *et al.* (2006) obteve um  $Q_{10}$  de 2,2 entre 80 e 90°C e de 2,0 entre 70 e 80°C enquanto Kechinski *et al.* (2010) obteve 2,95 entre 60 e 70°C ao estudar o coeficiente de temperatura para a degradação das antocianinas dos extratos de mirtilo extraídos com etanol e água.

Para a faixa de temperatura de 50 a 70°C o  $Q_{10}$  obtido no extrato com adição de 7,5 g/L de esteviosídeo apresentou um valor de 35,5% menor que o branco. Na faixa de temperatura de 50 a 90°C os extratos adicionados de sacarose 40% (m/v) e ácido cítrico 25% (m/v) foram os

que apresentaram maiores valores de  $Q_{10}$ , 2,119 e 2,115 respectivamente e a adição de 15 g/L de esteviosídeo propiciou uma diminuição de 10,57% em relação ao  $Q_{10}$  do extrato branco. O ácido cítrico 25% (m/v) também apresentou maior valor de  $Q_{10}$  na faixa de temperatura de 70 a 90°C, apresentando um valor de 47,75% superior ao branco enquanto que a adição de 7,5 g/L de esteviosídeo ao extrato apresentou a diminuição do  $Q_{10}$  em 18,35% quando comparado ao extrato branco.

Os valores de  $Q_{10}$  obtidos para o extrato de antocianinas de cerejeira-do-mato sem adição de conservantes foram próximos aos observados nos extratos adicionados de conservantes. O maior valor de  $Q_{10}$  dentro dos intervalos de temperaturas estudados indicam que a cinética de degradação foi fortemente afetada pela temperatura, enquanto que os menores valores sugerem que as associações moleculares poderiam diminuir a degradação das antocianinas.

O intervalo de temperatura (Z) que ocasiona uma variação de 10 vezes na velocidade de degradação foi obtido plotando-se o gráfico de  $\log(D)$  versus temperatura e pode ser observado na Tabela 20.

**Tabela 20** - Valores calculados para o intervalo de temperatura (Z) para cada condição de extrato proposta.

AMOSTRA (m/v)	Z (°C)	R <sup>2</sup>
<b>Branco</b>	41,152	0,975
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	36,364	0,959
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	36,232	0,970
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	35,461	0,985
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	31,847	0,988
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	35,336	0,993
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	36,630	0,979
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	34,965	0,994
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	37,594	0,994

Mercali *et al.* (2015) determinaram um valor de Z de 32,4°C no processo degradativo e antocianinas do extrato de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) entre 70 e 90°C. Peron (2015) ao analisar o processo degradativo de antocianinas do extrato de uva Itália e juçara entre 50 e 90°C obteve um valor de Z igual a 24,39 e 24,04°C, valor bem inferior aos encontrados para os extratos de cerejeira-do-mato sem e com a adição de conservantes. Os extratos adicionados de

conservantes apresentaram valores inferiores em até 21,61% quando comparados ao extrato branco, mostrando que a degradação dos mesmos ocorre a uma temperatura inferior à do branco. Segundo Reyes e Cisneros-Zevallos (2007), quanto menor o valor de Z, maior é a associação da dependência da temperatura de degradação das antocianinas.

Quando comparados os valores de Z obtidos para as antocianinas, com os dados da literatura para micro-organismos na avaliação da destruição térmica, estes foram considerados elevados e, dessa forma, é menor a dependência do fator termodegradável à variação da temperatura. Kobayashi *et al.* (2013) calcularam um valor Z de 10,2°C para a enzima polifenoxidase em uma faixa de temperatura de 35 a 55°C, enquanto Luu-Thi *et al.* (2014) calculou um valor Z de 10,6°C para esporos de *Bacillus cereus*, em uma faixa de temperatura de 50 a 100°C. Já para Ormus *et al.* (2015) o valor calculado foi de 9,32°C para uma faixa de temperatura de 75 a 95°C, para lisozima. Então, em um processo onde se deseja destruir os micro-organismos, se aumentarmos a temperatura haverá a destruição dos microrganismos e não a degradação da antocianina presente no extrato aplicado como corante. Isso é um ponto de extrema importância para a aplicação do extrato como corante na indústria alimentícia. (PERON, 2015).

### 5.3 ANÁLISE TERMODINÂMICA DO PROCESSO DE DEGRADAÇÃO DE ANTOCIANINAS

Os parâmetros termodinâmicos podem fornecer informações importantes quando se estuda uma grande variedade de propriedades físicas, químicas e bioquímicas.

Os valores das constantes cinéticas de degradação ( $k_d$ ) e energia de ativação ( $E_a$ ), foram utilizados para calcular as funções termodinâmicas, que estão apresentadas nas Tabelas 21, 22, 23, 24, 25, 26 e 27.

**Tabela 21** - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C.

AMOSTRA	$\Delta H$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta G$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta S$ (J.gmol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )
<b>Branco</b>	-50,382 ± 0,256	119,393 ± 0,000	-465,257 ± 2,751
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	-57,249 ± 0,852	119,393 ± 0,000	-486,619 ± 2,348
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	-57,350 ± 0,394	119,730 ± 0,476	-487,824 ± 0,227
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	-58,355 ± 1,629	119,393 ± 0,000	-489,665 ± 4,486
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	-64,166 ± 0,609	117,619 ± 0,000	-500,785 ± 1,676

<b>Frutose 20% (m/v)</b>	$-54,042 \pm 0,372$	$118,843 \pm 0,000$	$-476,267 \pm 1,025$
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	$-56,188 \pm 0,647$	$118,378 \pm 0,000$	$-480,896 \pm 1,782$
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	$-58,764 \pm 0,000$	$115,209 \pm 0,000$	$-479,266 \pm 0,000$
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	$-54,986 \pm 0,000$	$117,301 \pm 0,000$	$-474,621 \pm 0,000$

**Tabela 22** - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C.

<b>AMOSTRA</b>	<b><math>\Delta H</math> (kJ.gmol<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\Delta G</math> (kJ.gmol<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\Delta S</math> (J.gmol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>)</b>
<b>Branco</b>	$-50,299 \pm 0,256$	$117,522 \pm 0,000$	$-475,412 \pm 0,725$
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	$-57,166 \pm 0,852$	$117,522 \pm 0,000$	$-494,866 \pm 2,415$
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	$-57,267 \pm 0,394$	$117,522 \pm 0,000$	$-495,151 \pm 1,116$
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	$-58,272 \pm 1,629$	$117,522 \pm 0,000$	$-497,999 \pm 4,614$
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	$-64,083 \pm 0,609$	$116,022 \pm 0,000$	$-510,212 \pm 1,724$
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	$-53,959 \pm 0,372$	$117,099 \pm 0,597$	$-484,584 \pm 0,637$
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	$-56,104 \pm 0,647$	$116,350 \pm 0,463$	$-488,539 \pm 0,520$
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	$-58,681 \pm 0,000$	$114,643 \pm 0,000$	$-491,003 \pm 0,000$
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	$-54,903 \pm 0,000$	$114,643 \pm 0,000$	$-480,300 \pm 0,000$

**Tabela 23** - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C.

<b>AMOSTRA</b>	<b><math>\Delta H</math> (kJ.gmol<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\Delta G</math> (kJ.gmol<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\Delta S</math> (J.gmol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>)</b>
<b>Branco</b>	$-50,216 \pm 0,256$	$115,267 \pm 0,000$	$-482,456 \pm 0,746$
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	$-57,083 \pm 0,852$	$114,110 \pm 0,000$	$-499,106 \pm 2,485$
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	$-57,184 \pm 0,394$	$114,110 \pm 0,000$	$-499,400 \pm 1,148$
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	$-58,189 \pm 1,629$	$115,267 \pm 0,000$	$-505,702 \pm 4,748$
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	$-64,000 \pm 0,609$	$114,110 \pm 0,000$	$-519,271 \pm 1,774$
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	$-53,876 \pm 0,372$	$115,267 \pm 0,000$	$-493,127 \pm 1,085$
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	$-56,021 \pm 0,647$	$114,110 \pm 0,000$	$-496,011 \pm 1,885$
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	$-58,598 \pm 0,000$	$113,290 \pm 0,000$	$-501,131 \pm 0,000$
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	$-54,820 \pm 0,000$	$113,290 \pm 0,000$	$-490,116 \pm 0,000$

**Tabela 24** - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 60°C.

AMOSTRA	$\Delta H$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta G$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta S$ (J.gmol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )
<b>Branco</b>	-50,132 ± 0,256	113,743 ± 0,000	-492,120 ± 0,768
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	-57,000 ± 0,852	111,824 ± 0,000	-506,980 ± 2,560
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	-57,101 ± 0,394	113,743 ± 0,000	-513,045 ± 1,183
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	-58,106 ± 1,629	113,743 ± 0,000	-516,064 ± 4,891
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	-63,916 ± 0,609	113,743 ± 0,000	-533,513 ± 1,827
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	-53,793 ± 0,372	113,743 ± 0,000	-503,111 ± 1,118
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	-55,938 ± 0,647	113,743 ± 0,000	-509,554 ± 1,942
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	-58,515 ± 0,000	111,824 ± 0,000	-511,529 ± 0,000
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	-54,737 ± 0,000	111,824 ± 0,000	-500,183 ± 0,000

**Tabela 25** - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C.

AMOSTRA	$\Delta H$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta G$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta S$ (J.gmol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )
<b>Branco</b>	-50,049 ± 0,256	112,107 ± 0,000	-502,033 ± 0,792
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	-56,917 ± 0,852	111,204 ± 0,000	-520,497 ± 2,639
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	-57,017 ± 0,394	111,204 ± 0,000	-520,808 ± 1,220
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	-58,023 ± 1,629	111,204 ± 0,000	-523,921 ± 5,042
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	-63,833 ± 0,609	112,407 ± 0,424	-545,635 ± 3,196
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	-53,709 ± 0,372	111,618 ± 0,000	-511,849 ± 1,152
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	-55,855 ± 0,647	112,107 ± 0,000	-520,007 ± 2,002
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	-58,432 ± 0,000	110,246 ± 0,000	-522,221 ± 0,000
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	-54,654 ± 0,000	110,246 ± 0,000	-510,524 ± 0,000

**Tabela 26-** Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C.

AMOSTRA	$\Delta H$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta G$ (kJ.gmol <sup>-1</sup> )	$\Delta S$ (J.gmol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )
<b>Branco</b>	-49,841 ± 0,256	107,625 ± 0,206	-528,413 ± 0,166
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	-56,709 ± 0,852	107,625 ± 0,206	-551,458 ± 2,168
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	-56,809 ± 0,394	107,937 ± 0,234	-552,840 ± 0,537
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	-57,815 ± 1,629	108,102 ± 0,000	-556,768 ± 5,465
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	-63,625 ± 0,609	108,293 ± 0,270	-576,908 ± 2,948
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	-53,502 ± 0,372	107,625 ± 0,206	-540,695 ± 1,941

<b>Frutose 40% (m/v)</b>	-55,647 ± 0,647	107,480 ± 0,000	-547,405 ± 2,170
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	-58,224 ± 0,000	105,501 ± 0,000	-549,412 ± 0,000
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	-54,446 ± 0,000	105,501 ± 0,000	-536,734 ± 0,000

**Tabela 27** - Funções termodinâmicas para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C.

<b>AMOSTRA</b>	<b><math>\Delta H</math> (kJ.gmol<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\Delta G</math> (kJ.gmol<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\Delta S</math> (J.gmol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>)</b>
<b>Branco</b>	-49,717 ± 0,256	102,087 ± 0,196	-536,407 ± 1,596
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	-56,584 ± 0,852	103,594 ± 0,371	-565,999 ± 4,324
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	-56,685 ± 0,394	103,856 ± 0,000	-567,282 ± 1,392
<b>Sacarose 20% (m/v)</b>	-57,690 ± 1,629	104,195 ± 0,479	-572,030 ± 7,446
<b>Sacarose 40% (m/v)</b>	-63,501 ± 0,609	103,856 ± 0,000	-591,367 ± 2,150
<b>Frutose 20% (m/v)</b>	-53,377 ± 0,372	102,721 ± 0,256	-551,581 ± 0,409
<b>Frutose 40% (m/v)</b>	-55,522 ± 0,647	102,539 ± 0,000	-558,522 ± 2,285
<b>Ác. Cítrico 25% (m/v)</b>	-58,099 ± 0,000	101,700 ± 0,000	-564,661 ± 0,000
<b>Ác. Cítrico 50% (m/v)</b>	-54,321 ± 0,000	101,700 ± 0,000	-551,311 ± 0,000

A entalpia de ativação é uma medida da barreira energética que deve ser superada pelas moléculas reagentes e está relacionada com a força das ligações, que são quebradas na formação do estado de transição a partir do reagente. Para todos os extratos propostos os valores da entalpia de ativação ( $\Delta H$ ) foram semelhantes em cada temperatura estudada, havendo um pequeno aumento conforme a elevação da temperatura. Porém, ao analisar as diferentes condições de extratos propostos para uma mesma temperatura é possível observar que a adição dos conservantes aumenta a entalpia de ativação. Isto significa que a energia a ser quebrada para alcançar o estado de transição aumenta com a adição dos conservantes. Mercali *et al.* (2013) e Peron (2015) obtiveram comportamentos opostos ao estudar extrato de acerola e uva, respectivamente. O sinal negativo para  $\Delta H$  significa que a degradação da antocianina é uma reação exotérmica, acompanhada pela liberação de calor.

No estudo da degradação térmica de antocianinas de cerejeira-do-mato, o  $\Delta G$  que representa a diferença entre o estado ativado dos reagentes (MERCALI *et al.*, 2013) mostrou valores próximos quando comparado o extrato puro (branco) e os adicionados dos conservantes. Isso indica que fatores similares afetaram taxa de degradação das antocianinas sem e com a incorporação, ou seja, os mecanismos de degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato foram análogos, assim como observado por Antelo *et al.* (2016) ao analisar a influência da

adição de sacarose e frutose na degradação térmica de betaninas. O sinal positivo para  $\Delta G$  demonstrou que a degradação das antocianinas é uma reação não-espontânea.

A adição dos agentes conservantes ocasionou um aumento na entropia de ativação ( $\Delta S$ ) quando comparado ao extrato branco em todas as temperaturas. Os valores de entropia de ativação encontrados neste estudo sugerem que o estado de transição é mais estruturalmente organizado do que os reagentes e, portanto, a formação de complexo ativado está associada à diminuição de entropia, que pode ser observado pelos valores negativos. De acordo com Georgieva *et al.*, (2012), uma menor entropia de ativação significa que o estado do material está próximo do seu equilíbrio termodinâmico. Como consequência, o material mostra pouca reatividade, aumentando o tempo necessário para formar o complexo. Opostamente, quando os valores de entropia de ativação são maiores, como observado neste estudo (entre 416 e 591 J/mol.K), o material está longe de atingir o equilíbrio termodinâmico e nesta situação, o sistema pode reagir mais rapidamente para produzir o complexo ativado devido à maior reatividade.

Os valores de entropia negativa encontrados sugerem que o estado de transição possui uma menor liberdade estrutural do que os reagentes e conforme ocorre uma diminuição da temperatura há um aumento na entropia de ativação.

#### 5.4 DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DA COR PARA AS CONDIÇÕES DE EXTRATO PROPOSTAS

A percepção da cor é o resultado de três parâmetros ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) que são difíceis de interpretar de forma independente. Sendo assim, a melhor maneira para descrever a variação de cor é utilizando os parâmetros croma ( $C^*$ ), ângulo Hue ( $h^\circ$ ) e a Diferença Total de Cor (TCD), uma vez que é a combinação dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

A degradação da cor dos extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato foi confirmada através da análise colorimétrica. O parâmetro  $h^\circ$  obtido através da Equação 3 foi utilizado para graficar  $\frac{h^\circ_0}{h^\circ}$  em função do tempo para cada condição de extrato proposta. Os parâmetros  $C^*$  e TCD obtidos através das Equações 2 e 4 foram utilizados para graficar  $\ln \frac{\text{Parâmetro de cor}_0}{\text{Parâmetro de cor}}$  em função do tempo para cada condição de extrato proposta.

Dessa forma foi possível determinar para cada condição de extrato proposta os valores de  $k_d$  para cada parâmetro relacionados, para cada temperatura na qual foram submetidos, assim como verificar visualmente e através do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) que os ajustes dos dados indicaram um modelo cinético de ordem zero para  $h^\circ$  e um modelo cinético de primeira

ordem para os parâmetros  $C^*$  e TCD. Em uma reação de ordem zero, a velocidade de conversão do reagente depende apenas do tempo, enquanto que em uma reação de primeira ordem a velocidade depende também da concentração dos reagentes envolvidos

Os valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $k_d$ ) relacionados com os parâmetros colorimétricos ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) estão apresentados nas Tabelas 28, 29, 30, 31, 32, 33 e 34 assim como os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), que confirmam a correlação e o modelo cinético. Estes dados estão de acordo com o que foi relatado por Kara e Erçelebi (2013) e Yang *et al.* (2008).

**Tabela 28** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 90°C.

	$C^*$ (1º ordem)			$h^\circ$ (ordem zero)			TCD (1º ordem)		
	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$
<b>Branco</b>	0,208 <sup>a</sup>	3,337	0,91	0,117 <sup>a</sup>	5,919	0,91	0,117 <sup>a</sup>	5,914	0,92
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,196 <sup>a</sup>	3,540	0,90	0,121 <sup>a</sup>	5,752	0,95	0,112 <sup>a</sup>	6,178	0,90
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,222 <sup>a</sup>	3,117	0,91	0,136 <sup>a</sup>	5,093	0,96	0,098 <sup>a</sup>	7,087	0,90
<b>Sacarose 20%</b>	0,229 <sup>a</sup>	3,028	0,90	0,142 <sup>a</sup>	4,892	0,93	0,111 <sup>a</sup>	6,267	0,92
<b>Sacarose 40%</b>	0,181 <sup>a</sup>	3,836	0,92	0,147 <sup>a</sup>	4,712	0,93	0,113 <sup>a</sup>	6,134	0,91
<b>Frutose 20%</b>	0,162 <sup>a</sup>	4,289	0,91	0,178 <sup>a</sup>	3,898	0,92	0,120 <sup>a</sup>	5,762	0,91
<b>Frutose 40%</b>	0,210 <sup>a</sup>	3,302	0,90	0,059 <sup>b</sup>	11,79	0,78	0,100 <sup>a</sup>	6,945	0,90
<b>Ác. Cítrico 25%</b>	0,328 <sup>b</sup>	2,116	0,93	0,231 <sup>c</sup>	2,999	0,94	0,613 <sup>b</sup>	1,131	0,90
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	0,341 <sup>b</sup>	2,034	0,92	0,334 <sup>c</sup>	2,078	0,92	0,834 <sup>c</sup>	0,831	0,91

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 29** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 80°C.

AMOSTRA	$C^*$ (1º ordem)			$h^\circ$ (ordem zero)			TCD (1º ordem)		
	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$
<b>Branco</b>	0,167 <sup>a</sup>	4,156	0,84	0,060 <sup>a</sup>	11,514	0,76	0,051 <sup>a</sup>	13,538	0,92
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,064 <sup>b</sup>	10,899	0,58	0,059 <sup>a</sup>	11,788	0,78	0,038 <sup>b</sup>	18,145	0,91
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,117 <sup>a</sup>	5,909	0,91	0,141 <sup>b</sup>	4,923	0,69	0,043 <sup>b</sup>	16,157	0,90
<b>Sacarose 20%</b>	0,132 <sup>a</sup>	5,271	0,63	0,086 <sup>c</sup>	8,098	0,86	0,034 <sup>b</sup>	20,387	0,91
<b>Sacarose 40%</b>	0,081 <sup>c</sup>	8,611	0,92	0,061 <sup>a</sup>	11,40	0,52	0,062 <sup>a</sup>	11,108	0,88
<b>Frutose 20%</b>	0,097 <sup>c</sup>	7,161	0,83	0,073 <sup>c</sup>	9,482	0,91	0,037 <sup>b</sup>	18,734	0,91
<b>Frutose 40%</b>	0,101 <sup>c</sup>	6,856	0,62	0,110 <sup>d</sup>	6,324	0,85	0,084 <sup>c</sup>	8,262	0,91

<b>Ác. Cítrico 25%</b>	0,199 <sup>a</sup>	3,490	0,94	0,100 <sup>d</sup>	6,925	0,94	0,590 <sup>d</sup>	1,174	0,90
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	0,222 <sup>a</sup>	3,127	0,94	0,121 <sup>bd</sup>	5,714	0,95	0,632 <sup>d</sup>	1,097	0,90

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 30** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 70°C.

AMOSTRA	$C^*$ (1º ordem)			$h^\circ$ (ordem zero)			TCD (1º ordem)		
	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$
<b>Branco</b>	0,068 <sup>a</sup>	10,193	0,92	0,038 <sup>a</sup>	18,435	0,98	0,106 <sup>a</sup>	6,558	0,93
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,071 <sup>a</sup>	9,708	0,95	0,037 <sup>a</sup>	18,683	0,97	0,112 <sup>a</sup>	6,178	0,95
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,072 <sup>a</sup>	9,654	0,97	0,040 <sup>a</sup>	17,460	0,98	0,128 <sup>a</sup>	5,415	0,92
<b>Sacarose 20%</b>	0,075 <sup>a</sup>	9,254	0,95	0,040 <sup>a</sup>	17,285	0,96	0,170 <sup>a</sup>	4,070	0,94
<b>Sacarose 40%</b>	0,075 <sup>a</sup>	9,254	0,92	0,045 <sup>a</sup>	15,438	0,97	0,134 <sup>a</sup>	5,161	0,93
<b>Frutose 20%</b>	0,073 <sup>a</sup>	9,469	0,95	0,042 <sup>a</sup>	16,425	0,99	0,141 <sup>a</sup>	4,912	0,95
<b>Frutose 40%</b>	0,071 <sup>a</sup>	9,804	0,95	0,045 <sup>a</sup>	15,403	0,99	0,114 <sup>a</sup>	6,080	0,94
<b>Ác. Cítrico 25%</b>	0,049 <sup>b</sup>	14,088	0,72	0,070 <sup>b</sup>	9,930	0,82	0,276 <sup>b</sup>	2,513	0,95
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	0,092 <sup>c</sup>	7,534	0,70	0,093 <sup>c</sup>	7,453	0,75	0,194 <sup>b</sup>	3,582	0,93

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 31** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 60°C.

AMOSTRA	$C^*$ (1º ordem)			$h^\circ$ (ordem zero)			TCD (1º ordem)		
	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$
<b>Branco</b>	0,088 <sup>a</sup>	7,904	0,96	0,007 <sup>a</sup>	101,933	0,92	0,043 <sup>a</sup>	15,971	0,92
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,091 <sup>a</sup>	7,642	0,98	0,007 <sup>a</sup>	96,270	0,89	0,051 <sup>a</sup>	13,645	0,91
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,098 <sup>a</sup>	7,044	0,98	0,007 <sup>a</sup>	99,021	0,92	0,037 <sup>a</sup>	18,938	0,95
<b>Sacarose 20%</b>	0,088 <sup>a</sup>	7,868	0,97	0,007 <sup>a</sup>	96,270	0,93	0,050 <sup>a</sup>	13,835	0,92
<b>Sacarose 40%</b>	0,073 <sup>b</sup>	9,495	0,95	0,003 <sup>b</sup>	223,596	0,90	0,051 <sup>a</sup>	13,618	0,90
<b>Frutose 20%</b>	0,102 <sup>a</sup>	6,809	0,96	0,004 <sup>b</sup>	187,337	0,82	0,048 <sup>a</sup>	14,411	0,90
<b>Frutose 40%</b>	0,088 <sup>a</sup>	7,877	0,95	0,003 <sup>b</sup>	223,596	0,92	0,049 <sup>a</sup>	14,262	0,82
<b>Ác. Cítrico 25%</b>	0,163 <sup>c</sup>	4,250	0,73	0,041 <sup>c</sup>	16,989	0,82	0,190 <sup>b</sup>	3,654	0,93
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	0,141 <sup>c</sup>	4,916	0,34	0,101 <sup>d</sup>	6,836	0,55	0,202 <sup>b</sup>	3,431	0,91

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 32** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 50°C.

AMOSTRA	$C^*$ (1º ordem)			$h^\circ$ (ordem zero)			TCD (1º ordem)		
	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$
<b>Branco</b>	0,015 <sup>a</sup>	46,520	0,90	0,008 <sup>a</sup>	82,518	0,97	0,021 <sup>a</sup>	32,696	0,94
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,019 <sup>a</sup>	36,870	0,90	0,008 <sup>a</sup>	83,512	0,96	0,020 <sup>a</sup>	34,145	0,91
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,015 <sup>a</sup>	45,010	0,91	0,009 <sup>a</sup>	80,599	0,94	0,020 <sup>a</sup>	34,145	0,92
<b>Sacarose 20%</b>	0,017 <sup>a</sup>	41,756	0,95	0,008 <sup>a</sup>	88,865	0,97	0,018 <sup>ab</sup>	39,608	0,92
<b>Sacarose 40%</b>	0,016 <sup>a</sup>	42,524	0,96	0,008 <sup>a</sup>	91,204	0,97	0,013 <sup>c</sup>	52,912	0,82
<b>Frutose 20%</b>	0,015 <sup>a</sup>	45,602	0,92	0,008 <sup>a</sup>	82,518	0,98	0,016 <sup>b</sup>	43,322	0,91
<b>Frutose 40%</b>	0,014 <sup>a</sup>	49,159	0,90	0,011 <sup>b</sup>	62,446	0,92	0,011 <sup>d</sup>	64,780	0,93
<b>Ác. Cítrico 25%</b>	0,022 <sup>b</sup>	31,942	0,77	0,013 <sup>b</sup>	55,452	0,88	0,051 <sup>e</sup>	13,672	0,92
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	0,026 <sup>b</sup>	26,557	0,84	0,075 <sup>c</sup>	9,254	0,88	0,142 <sup>f</sup>	4,868	0,96

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 33** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 25°C.

AMOSTRA	$C^*$ (1º ordem)			$h^\circ$ (ordem zero)			TCD (1º ordem)		
	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$
<b>Branco</b>	0,004 <sup>a</sup>	173,287	0,90	0,002 <sup>a</sup>	315,067	0,90	0,004 <sup>a</sup>	177,730	0,91
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,007 <sup>b</sup>	100,456	0,91	0,002 <sup>a</sup>	315,067	0,81	0,005 <sup>a</sup>	147,478	0,89
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,008 <sup>b</sup>	87,740	0,91	0,003 <sup>a</sup>	231,049	0,81	0,003 <sup>b</sup>	266,595	0,96
<b>Sacarose 20%</b>	0,004 <sup>a</sup>	157,533	0,90	0,002 <sup>a</sup>	385,082	0,79	0,002 <sup>c</sup>	346,574	0,90
<b>Sacarose 40%</b>	0,001 <sup>c</sup>	533,190	0,87	0,001 <sup>b</sup>	693,147	0,87	0,002 <sup>c</sup>	385,082	0,90
<b>Frutose 20%</b>	0,008 <sup>b</sup>	90,019	0,96	0,001 <sup>b</sup>	630,134	0,87	0,002 <sup>c</sup>	385,082	0,92
<b>Frutose 40%</b>	0,006 <sup>b</sup>	111,798	0,91	0,002 <sup>ab</sup>	433,217	0,78	0,002 <sup>c</sup>	346,574	0,90
<b>Ác. Cítrico 25%</b>	0,007 <sup>b</sup>	106,638	0,91	0,003 <sup>ac</sup>	266,595	0,90	0,007 <sup>d</sup>	106,638	0,85
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	0,007 <sup>b</sup>	94,952	0,90	0,003 <sup>ac</sup>	231,049	0,91	0,010 <sup>e</sup>	68,628	0,87

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

**Tabela 34** - Valores das constantes cinéticas de degradação térmica ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e meia-vida ( $t_{1/2}$ ) para cada condição de extrato proposta quando submetidos a temperatura de 10°C.

AMOSTRA	$C^*$ (1º ordem)			$h^\circ$ (ordem zero)			TCD (1º ordem)		
	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$	$k_d$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$R^2$
<b>Branco</b>	0,0024 <sup>a</sup>	288,811	0,93	0,0019 <sup>a</sup>	364,814	0,95	0,0037 <sup>d</sup>	187,337	0,94

<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	0,0023 <sup>a</sup>	301,368	0,93	0,0016 <sup>a</sup>	433,217	0,94	0,0031 <sup>c</sup>	223,596	0,92
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	0,0024 <sup>a</sup>	288,811	0,78	0,0018 <sup>a</sup>	385,082	0,97	0,0020 <sup>a</sup>	346,574	0,90
<b>Sacarose 20%</b>	0,0015 <sup>b</sup>	462,098	0,94	0,0019 <sup>a</sup>	364,814	0,94	0,0017 <sup>a</sup>	407,734	0,92
<b>Sacarose 40%</b>	0,0013 <sup>bc</sup>	533,190	0,92	0,0021 <sup>b</sup>	330,070	0,92	0,0015 <sup>a</sup>	462,098	0,90
<b>Frutose 20%</b>	0,0026 <sup>a</sup>	266,595	0,92	0,0024 <sup>b</sup>	288,811	0,95	0,0017 <sup>a</sup>	407,734	0,91
<b>Frutose 40%</b>	0,0018 <sup>d</sup>	385,082	0,93	0,0019 <sup>a</sup>	364,814	0,91	0,0015 <sup>a</sup>	462,098	0,92
<b>Ác. Cítrico 25%</b>	0,0046 <sup>e</sup>	150,684	0,99	0,0023 <sup>b</sup>	301,368	0,98	0,0068 <sup>b</sup>	101,933	0,92
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	0,0040 <sup>e</sup>	173,287	0,98	0,0020 <sup>b</sup>	346,574	0,95	0,0070 <sup>b</sup>	99,021	0,95

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

O croma ( $C^*$ ) caracteriza a saturação e é definido pela distância de  $h^\circ$  ao centro do diagrama tridimensional, sendo o zero no centro e aumentando de acordo com a distância (Figura 8). O parâmetro  $h^\circ$  caracteriza a tonalidade e demonstra a localização da cor no diagrama (Figura 8), onde o ângulo  $0^\circ$  representa vermelho puro; o  $90^\circ$ , o amarelo puro; o  $180^\circ$ , o verde puro e o  $270^\circ$ , o azul puro. No caso de cada condição proposta para os extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato, percebe-se que com o aumento da temperatura ocorre um aumento da constante cinética de degradação  $C^*$  proveniente da diminuição do croma ( $C^*$ ) evidenciando a diminuição da coloração vermelha, já que os valores de  $h^\circ$  se mantiveram entre  $0^\circ$  e  $2^\circ$  (região vermelha) para todas as temperaturas estudadas.

Em relação a diferença total de cor (TCD), o aumento da temperatura propiciou um aumento nos valores da constante de degradação da TCD, proveniente do aumento da TCD com valores bem superiores a 1, indicando que existe degradação durante o processamento térmico de antocianinas em produtos que utilizam como matéria-prima ou insumos as frutas vermelhas.

Na temperatura de  $90^\circ\text{C}$  (Tabela 28), os extratos adicionados de 25 e 50% de ácido cítrico aumentaram a constante de degradação de  $C^*$  do extrato visto que as mesmas apresentaram diferença estatística em relação ao valor obtido para o extrato branco apresentando para estas condições uma redução de 36,57% na meia-vida. O mesmo ocorreu em relação aos  $k_d$  de  $h^\circ$  e TCD, sendo que a adição de 25 e 50% de ácido cítrico diminuiu a meia-vida em 64,89% quando analisado o parâmetro  $h^\circ$  e quando analisado o parâmetro TCD a adição de 25% e 50% de ácido cítrico reduziu em 80,88 e 85,95%, respectivamente. A adição de 40% de frutose (m/v) ao extrato apresentou um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) menor que 0,9, então o aumento na meia-vida do extrato não pode ser considerado.

Na temperatura de  $80^\circ\text{C}$  (Tabela 29), quando a constante de degradação  $C^*$  foi analisada, a adição de 40% de sacarose (m/v) ao extrato apresentou um aumento da meia-vida

de 98,2%. Os extratos adicionados de 7,5 g/L de esteviosídeo e 20 e 40% de frutose (m/v) também apresentaram um aumento na meia-vida, porém esses dados obtiveram um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) inferior a 0,9. A adição de 20% de frutose (m/v) e 25% e 50% de ácido cítrico (m/v) ocasionou um aumento na constante cinética de degradação  $h^\circ$  propiciando um efeito negativo na meia-vida com a redução de 17,65, 39,86 e 50,37%, respectivamente. Com relação a constante de degradação de TCD, com exceção da adição de 20% de frutose (m/v) e 25% e 50% de ácido cítrico (m/v) (que propiciou a redução de até 91% da meia-vida do extrato), a adição dos outros conservantes resultou no aumento da meia-vida em até 50,59%, como no caso da adição de 20% de sacarose (m/v).

Quando cada condição de extrato proposto foi submetida a temperatura de 70°C (Tabela 30), ao analisar os  $k_d$  de  $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD, a adição dos diferentes conservantes, com exceção de 25 e 50% de ácido cítrico (m/v), não causou nenhum efeito sobre a meia-vida dos extratos quando comparados ao branco. A adição de 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) ao extrato ocasionou uma redução de 61,68 e 45,38% na meia vida quando analisado a constante cinética de TCD. Para os parâmetros  $C^*$  e  $h^\circ$  os  $k_d$  obtidos para o extrato com adição de ácido cítrico nas duas concentrações apresentaram um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) menor que 0,9.

Quando avaliadas os  $k_d$  de  $C^*$  e  $h^\circ$  e TCD na temperatura de 60°C (Tabela 31), a adição de 40% de sacarose (m/v) ocasionou o aumento da meia-vida dos extratos em 20,13 e 119,36% para os parâmetros  $C^*$  e  $h^\circ$  respectivamente. A adição de 25% e 50% de ácido cítrico (m/v) ocasionou uma diminuição de 78% no parâmetro TCD.

Com o decréscimo da temperatura pode-se observar a diminuição dos  $k_d$  de  $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD e conseqüentemente um aumento na meia-vida para cada condição de extrato proposta, como esperado. Isso pode ser observado claramente através das Tabelas 32, 33 e 34 que apresentaram os resultados para cada condição de extrato proposto quando submetidos as temperaturas de 50, 25 e 10°C respectivamente.

Na temperatura de 50°C (Tabela 32), o extrato adicionado de 40% de frutose (m/v) apresentou um aumento no  $k_d$  de  $h^\circ$  reduzindo a meia vida em 24,32%. Ao analisar a constante de degradação cinética TCD foi possível observar que com a adição de 20 e 40% de frutose (m/v) ao extrato, obteve-se um aumento de 32,5 e 98,13 % na meia-vida quando comparados ao extrato branco. Já a adição de 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) ocasionaram a redução da meia-vida em 58,19 e 85,11%.

Com exceção dos extratos adicionados de 20% de sacarose (m/v) que não se diferenciou estatisticamente do extrato branco, e de 40% de sacarose (m/v) que apresentou um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) menor que 0,9, na temperatura de 25°C (Tabela 33) as adições de todos

os outros conservantes aumentaram o coeficiente cinético de degradação de  $C^*$ , influenciando negativamente na meia-vida, chegando a uma redução e até 49,37%, como no caso da adição de 15 g/L de esteviosídeo. Quando avaliados os coeficientes cinéticos de degradação de  $h^\circ$ , os únicos resultados considerados foram a adição de 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) que ocasionaram uma redução na meia-vida de 15,39 e 26,67 %, respectivamente. Em relação ao coeficiente cinético de degradação de TCD, a adição de 15 g/L de esteviosídeo, 20 e 40% de sacarose e frutose (m/v) propiciaram um aumento entre 50 e 116,68% na meia-vida do extrato quando comparados ao branco. A adição de 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) apresentou um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) inferior a 0,9.

Quando cada condição de extrato proposto foi submetida à temperatura de 10°C (Tabela 34), ao analisar a constante cinética de degradação de  $C^*$ , a adição de 20 e 40% de sacarose (m/v) e 40% de frutose (m/v) ao extrato, fez com que houvesse um aumento na meia-vida de 60, 84,62 33,33% respectivamente, enquanto que a adição de ácido cítrico nas duas concentrações ocasionou a redução de 47,83 e 40%. A adição de nenhum conservante gerou o aumento da meia-vida dos extratos quando analisada a constante cinética de degradação de  $h^\circ$ , sendo que a adição de 40% de sacarose (m/v), 20% de frutose (m/v) e 25 e 50% de ácido cítrico (m/v) propiciaram a sua diminuição em até 20%. Em relação ao coeficiente cinético de degradação de TCD, com exceção da adição de ácido cítrico nas duas concentrações, a adição de todos os outros conservantes fez com que houvesse um aumento na meia-vida que variou de 19, 35% quando adicionado 7,5 g/L de esteviosídeo até 146,67% quando adicionado 40% de sacarose e frutose (m/v).

Ao estudar a cinética de degradação térmica da cor de antocianinas de milho roxo nas temperaturas de 90, 80 e 70°C, Yang *et al.* (2008) encontraram valores bem superiores dos coeficientes cinéticos de degradação de  $h^\circ$  (3,93, 2,48 e 1,69  $h^{-1}$ ) aos encontrados nesse estudo, que variou entre 0,333 e 0,0371  $h^{-1}$ .

O aumento do coeficiente cinético de degradação de  $h^\circ$  indicou o aumento do ângulo hue ( $h^\circ$ ), responsável pela tonalidade e que segundo os valores obtidos mostram a diminuição da coloração vermelha ( $h^\circ=0$ ) que pode ser associada a formação de chalconas amarelas ( $h^\circ=90$ ). O aumento do coeficiente cinético de degradação de  $C^*$  indicou a diminuição da intensidade da cor conforme o tempo de exposição a uma dada temperatura e o aumento nos valores da TCD (diferença total da cor) foi proporcional ao aumento da temperatura, representando perdas significativas da cor da amostra original.

Em soluções aquosas, as antocianinas se encontram comumente na forma de uma mistura de diferentes estruturas químicas em equilíbrio: cátion flavilium (vermelho), base

anidra quinoidal (azul), pseudo-base carbinol (incolor), e chalcona (incolor ou levemente amarela). A pH abaixo de 2, as antocianinas apresentam-se basicamente na forma catiônica; com o aumento do pH, ocorre uma rápida desprotonação para formar a base quinoidal. Em meio aquoso a hidratação do cátion flavílium leva ao equilíbrio entre a forma carbinol e chalcona. À temperatura ambiente, e em meio levemente acidificado, o equilíbrio entre as formas carbinol e chalcona é muito lento e leva horas para ser atingido. O aumento da temperatura desloca o equilíbrio na direção da formação da base chalcona (HEREDIA et al., 1998).

Abordando os resultados de uma maneira geral, ficou claro que o aumento da temperatura ocasionou um aumento das constantes cinéticas de degradação  $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD e que as alterações na cor durante o processamento foram diretamente proporcionais ao aumento da temperatura, ou seja, ocorreram de maneira mais pronunciada quando cada condição de extrato proposta foi submetido a temperatura de 90°C.

A adição de 40% de sacarose (m/v) ao extrato nas temperaturas de 80, 60, 25 e 10°C mostrou uma diminuição do  $k_d$  de  $C^*$ , ou seja, a adição do mesmo fez com que a degradação fosse mais lenta fazendo com que a intensidade da cor permanecesse por mais tempo.

Para determinação da energia de ativação da reação de degradação foi utilizado o fator de frequência (A) correlacionando-se o inverso das temperaturas com o logaritmo das constantes cinéticas de degradação térmica de  $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD para cada condição de extrato proposta. Os resultados estão apresentados na Tabela 35.

**Tabela 35** - Valores de energia de ativação da reação de degradação para os parâmetros de  $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD para cada condição de extrato proposto.

AMOSTRA	Ea ( $C^*$ )	R <sup>2</sup>	Ea ( $h^\circ$ )	R <sup>2</sup>	Ea (TCD)	R <sup>2</sup>
<b>Branco</b>	45,221 <sup>a</sup>	0,92	48,439 <sup>a</sup>	0,96	27,380 <sup>c</sup>	0,70
<b>Esteviosídeo 7,5 g/L</b>	46,117 <sup>a</sup>	0,95	50,699 <sup>a</sup>	0,95	38,845 <sup>ac</sup>	0,92
<b>Esteviosídeo 15 g/L</b>	43,871 <sup>a</sup>	0,95	62,577 <sup>a</sup>	0,99	40,143 <sup>ac</sup>	0,63
<b>Sacarose 20%</b>	58,621 <sup>b</sup>	0,97	55,031 <sup>a</sup>	0,95	52,281 <sup>ab</sup>	0,87
<b>Sacarose 40%</b>	51,448 <sup>ab</sup>	0,99	53,916 <sup>a</sup>	0,93	52,480 <sup>ab</sup>	0,91
<b>Frutose 20%</b>	46,346 <sup>a</sup>	0,97	64,095 <sup>a</sup>	0,99	51,158 <sup>ab</sup>	0,79
<b>Frutose 40%</b>	41,666 <sup>a</sup>	0,96	52,802 <sup>a</sup>	0,95	60,669 <sup>ab</sup>	0,89
<b>Ác. Cítrico 25%</b>	58,647 <sup>b</sup>	0,91	48,833 <sup>a</sup>	0,94	53,052 <sup>b</sup>	0,93
<b>Ác. Cítrico 50%</b>	49,563 <sup>ab</sup>	0,93	51,973 <sup>a</sup>	0,95	45,089 <sup>b</sup>	0,97

\*Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre as médias em cada coluna, com  $p < 0,05$ .

Com relação as coordenadas de cor, verificou-se que com exceção da  $E_a$  de TCD do extrato branco, e do extrato adicionado de 15 g/L de esteviosídeo, que obtiveram coeficientes de determinação bem abaixo das demais condições, os valores das energias de ativação da reação de degradação encontrados para cada parâmetro apresentados na Tabela 34, são compatíveis com as alterações na cor em produtos alimentícios, que de acordo com LUND (1979), devem estar na faixa de 40 a 125 kJ.gmol<sup>-1</sup>.

Ao analisar o parâmetro  $C^*$ , observou-se que a adição de 20% de sacarose (m/v) e 25% de ácido cítrico (m/v) aumentou a energia de ativação em 29,6 %, favorecendo uma degradação mais lenta, já que é necessária uma maior energia para ativar a reação de degradação térmica.

A adição dos conservantes ao extrato não influenciou na energia de ativação do parâmetro  $h^\circ$ , pois como pode ser observado não houve diferença estatística entre cada condição de extrato proposta.

Embora o coeficiente de correlação determinado para a  $E_a$  da TCD do extrato branco tenha sido baixo (0,70), foi possível observar que com a exceção da adição de 7,5 e 15 g/L de esteviosídeo, a adição de todos os outros extratos aumentaram significativamente a energia de ativação.

Ao estudar a cinética de degradação térmica da cor de antocianinas de milho roxo, Yang *et al.* (2008) obtiveram energias de ativação da reação de degradação para os parâmetros  $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD iguais a 35,9, 34,9 e 37,1 kJ.gmol<sup>-1</sup>, valores inferiores aos encontrados neste trabalho, evidenciando que os extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato apresentaram uma degradação mais lenta.

Segundo Yang *et al.*(2008), valores de energia de ativação da reação de degradação de antocianinas maiores que os que obtidos quando avaliados nos parâmetros de cor, significam que houve uma maior sensibilidade ao calor durante o processamento térmico, ou seja, a dependência da concentração de antocianinas na degradação foi maior.

## 5.5 RELAÇÃO ENTRE A COR E A CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS PARA AS CONDIÇÕES DE EXTRATO PROPOSTAS.

Os resultados de  $\beta_1$  e  $\beta_2$ , que representam os coeficientes angulares e lineares da reta, respectivamente, obtidos para cada parâmetro colorimétrico foram determinados através da relação linear entre o parâmetro de cor e a concentração de antocianinas e, assim como os coeficientes de determinação, são mostrados nas Tabelas 36, 37 e 38.

**Tabela 36** – Coeficientes da relação linear do parâmetro C\* de degradação térmica da cor do extrato de antocianinas de cerejeira-do-mato.

Temperatura	$\beta_1$	$\beta_2$	R <sup>2</sup>
90°C	0,998	0,009	0,94
80°C	0,662	0,320	0,82
70°C	1,063	-0,098	0,92
60°C	1,666	-0,746	0,96
50°C	0,935	0,072	0,96
25°C	0,482	0,279	0,90
10°C	0,711	0,165	0,94

**Tabela 37** - Coeficientes da relação linear do parâmetro h° de degradação térmica da cor do extrato de antocianinas de cerejeira-do-mato.

Temperatura	$\beta_1$	$\beta_2$	R <sup>2</sup>
90°C	-1,440	2,154	0,89
80°C	-1,566	2,404	0,92
70°C	-0,981	2,059	0,84
60°C	-1,213	2,957	0,92
50°C	-1,145	1,073	0,81
25°C	-1,733	2,769	0,91
10°C	-0,630	1,678	0,84

**Tabela 38** - Coeficientes da relação linear do parâmetro TCD de degradação térmica da cor do extrato de antocianinas de cerejeira-do-mato.

Temperatura	$\beta_1$	$\beta_2$	R <sup>2</sup>
90°C	-1,215	2,189	0,96
80°C	-0,829	1,681	0,94
70°C	-1,209	-0,264	0,91
60°C	1,816	-0,884	0,92
50°C	1,043	-0,051	0,93
25°C	-1,974	3,163	0,88
10°C	-1,297	2,465	0,88

Pode-se observar através das Tabelas 36,37 e 38 que houve uma correlação linear entre os parâmetros da cor ( $C^*$ ,  $h^\circ$  e TCD) e a concentração de antocianinas do extrato de *Eugenia involucrata*.

Esses resultados estão de acordo com Kara e Erçelebi (2013) e com Yang *et al.* (2008) ao estudarem a relação entre a cor e a concentração de antocianinas do extrato de amora e de milho roxo, respectivamente, onde obtiveram coeficientes de determinação superiores a 0,90.

As pigmentações das frutas devido à presença de antocianinas são mais sensíveis ao calor e podem ser utilizadas como um indicador da qualidade do produto. Uma boa correlação linear entre a cor total e a concentração de antocianinas infere que a cor total pode também ser usada em vez da concentração de antocianina, quando os resultados apresentam um bom coeficiente de determinação (AHMED, 2004).

## 6. CONCLUSÃO

Através da utilização da ferramenta de planejamento experimental foi possível a extração da maior concentração de antocianinas de cerejeira-do-mato, 451,5 mg de antocianina/100 g de amostra, utilizando-se a fruta com casca, com etanol 95% como solvente extrator, permanecendo em contato com a fruta por 30 minutos na temperatura de 55 °C. O solvente extrator assim como a temperatura e o tempo de extração foram estatisticamente significativos na resposta, exercendo, os dois primeiros, um efeito positivo na concentração das antocianinas. Além de apontar as condições adequadas à extração mais eficiente das antocianinas da fonte explorada, a análise estatística permitiu a obtenção de um modelo matemático e a construção das superfícies de resposta dentro dos limites estudados para as três variáveis de entrada.

Os extratos de antocianinas de cerejeira-do-mato seguiram um modelo de degradação de 1ª ordem e os valores das constantes de degradação térmica aumentaram com o acréscimo da temperatura, reduzindo a sua meia-vida. Com a determinação dos parâmetros cinéticos para cada extrato proposto pôde-se concluir que na temperatura de 90° a adição de 15 g/L de esteviosídeo aumentou a meia-vida do extrato. Nas temperaturas de 80, 70 e 60°C nenhum conservante influenciou na meia-vida e a adição de 40% de sacarose (m/v) reduziu consideravelmente o  $k_d$  quando o extrato foi submetido às temperaturas de 50 e 25°C. Na temperatura de refrigeração (10°C) a adição de 7,5 e 15 g/L de esteviosídeo e de 20 e 40% de sacarose (m/v) ao extrato fez com que houvesse uma diminuição do  $k_d$  aumentando a meia-vida.

Com a adição dos conservantes houve um aumento na energia de ativação sendo que a adição de 40% de sacarose (m/v) proporcionou um aumento de 28,37% em relação ao extrato

branco. O tempo de redução decimal diminuiu com o acréscimo da temperatura para todas as condições de extrato propostas, enquanto o valor Z evidenciou que há uma menor dependência do fator termodegradável à variação da temperatura. O coeficiente de temperatura mostrou que, para o intervalo entre 50 a 70°C, a cinética de degradação foi mais afetada pela temperatura, para todas as condições de extrato propostas.

O comportamento termodinâmico para cada condição de extrato proposta se apresentou similar nas faixas de temperaturas estudadas, porém ao analisar os diferentes extratos propostos para uma mesma temperatura foi possível observar que a adição dos conservantes aumentou a entalpia de ativação assim como a entropia de ativação. Ao analisar a energia livre de Gibbs no extrato sem e com a adição de conservantes concluiu-se que os mecanismos de degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato foram análogos. Caracterizou-se a reação de degradação das antocianinas de cerejeira-do-mato como exotérmica, não-espontânea e que o estado de transição das moléculas de antocianina está estruturalmente mais organizado.

Ao analisar a cinética de degradação da cor concluiu-se que a adição de 40% de sacarose (m/v) ao extrato apresentou o melhor comportamento como conservante, não se diferenciando significativamente do extrato branco ou propiciando um aumento na meia-vida de todos os parâmetros estudados além de que proporcionou um aumento considerável na energia de ativação.

Em relação a correlação entre a cor e a concentração de antocianinas, pôde-se concluir que os parâmetros de degradação térmica da cor  $C^*$  e TCD, seguiram um modelo cinético de primeira ordem e o parâmetro de degradação térmica da cor  $h^\circ$  seguiu um modelo cinético de ordem zero. O bom coeficiente de determinação entre a cor total e a concentração de antocianinas infere que a cor total pode ser utilizada como indicativo de qualidade em vez da concentração de antocianinas.

De maneira geral, pelas análises cinéticas e termodinâmicas realizadas, conclui-se que a adição de 15 g/L de esteviosídeo e 40% de sacarose (m/v) ao extrato de antocianinas de *Eugenia involucrata*, podem ser empregados como alternativas tecnológicas para proporcionar a manutenção da coloração desejada do pigmento na indústria alimentícia.

## 7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

- Expandir o planejamento experimental para extração de antocianinas de *Eugenia involucrata* através de um Delineamento composto central rotacional (DCCR), buscando otimizar as condições do processamento.
- Explorar a adição do ácido cítrico como redutor de pH dentro da faixa de maior estabilidade definida para as antocianinas.
- Ampliar a gama de agentes conservantes utilizados como estabilizantes da cor, autorizados pela ANVISA, na faixa de temperatura já explorada.

## 8. REFERÊNCIAS

- AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; RAGHAVAN, G. S. V. Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of plum puree. *European Food Research and Technology*, n. 218, p. 525–528, 2004.
- AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; SANDHU, S. Thermal degradation kinetics of carotenoids and visual color of papaya puree. *Journal of Food Science*, v. 67, p. 2692–2695, 2002.
- ANDERSEN, O. M.; CABRITA, L.; FOSSEN, T. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region, *Food Chemistry*, v. 63, p. 435-440, 1998.
- ANGELUCCI, E. Adoçantes e edulcorantes. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE STÉVIA REBAUDIANA, 1986, Campinas.
- ANTELO, F.; SILVA, L.; RODRIGUES, S.; IZAGUIRRES, G. Influência da adição de agentes estabilizantes na cinética de degradação térmica das betaninas de beta vulgaris. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2016, Fortaleza.
- ASSIRY, A.; SASTRY, S.K.; SAMARANAYAKE, C. Degradation kinetics of ascorbic acid during ohmic heating with stainless steel electrodes. *Journal of Applied Electrochemistry*, v. 33, p. 187-196, 2003.
- BARREIROS, R. C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C. E. P. Frutose em humanos: Efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. *Revista de Nutrição*, v. 18, p. 377-389, 2005.
- BASTOS, A. C. L. M.; RODRIGUES, E. M. S.; SOUZA, J. P. I. *Físico-Química*. Belém: UFPA, 2011.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Introdução à química de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992.
- BORDIGNON, L. M. T.; GAUCHE, C.; GRIS, E. F.; FALCÃO, L. D. Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems, *LWT. Food Science & Technollogy*, v. 40, p. 594–599, 2007.
- BRASIL. Decreto n. 55871, de 26 de março de 1965. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/1950-1969/D55871.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1950-1969/D55871.htm). Acesso em: 03 de outubro de 2016.
- BRITO, E. Dossiê dos conservantes. *Food Ingredients Brasil*, n.18, p. 28-51, 2011.
- CABRITA, L.; PETROV, V.; PINA, F. On the termal degradation of anthocyanidins: cyanidin. *RSC Advances*, v. 4, p. 18939-18944, 2014.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. D. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, v. 113, p. 859-871, 2009.

- COELHO, G. A., 2011. **Estudo da degradação térmica de antocianinas de extratos de uva (*Vitis vinífera* L. “Brasil”) e jaborcaba (*Myrciaria cauliflora*)**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **B.CEPPA**, v. 20, n. 2, 2002.
- CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes alimentícios. **Boletim do CEPPA**, v. 20, p. 203-220, 2002.
- CUNHA, F.A. et al. Determinação de nitritos em alimentos cárneos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 35, p. 3-4, 2003.
- DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. **Food Chemistry**, v. 103, p. 935–943, 2007.
- DONADIO, L. C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal: Ed. Novos Talentos, 2002.
- FAVARO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para Aplicação industrial como corantes**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. Porto Alegre: Artmed, 2006.
- FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 2000.
- FOGLER, H. S. **Elementos de engenharia das reações químicas**. Rio de Janeiro: LTC, 2009.
- FONTAN, R. C. I.; ALCÂNTARA, L. A. P.; LAJE NETO, S. C. A.; BONOMO, R. C. F. Cinética de inativação da peroxidase em água de coco. **Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 249-258, 2012.
- FRANCIS, F. J. Food Colorants: anthocyanins. Critical Reviews. **Food Science Nutrition**, v.28, p.273-314, 1989.
- FRANCIS, F. J.; MARKAKIS, P. C. Food colorants: Anthocyanins Critical Reviews. **Food Science and Nutrition**, v.28, p. 273 - 314, 1989
- FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. C. B. Germinação in vitro e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* D. C. (Myrtaceae). **Rev. Bras. de Frutic**, v.28, p. 18-20, 2006.
- FRICK, D. The coloration of food. **Revista Prog. Color**, v 33, p 14-32, 2003.
- FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins: 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v. 33, p. 72-77, 1968.

GEORGIEVA, V.; ZVEZDOVA, D.; VLAEV, L. Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan. **Chemistry Central Journal**, v. 6, n. 1, p. 81, 2012.

HARBORNE, J. B.; GRAYER, R. J. **The anthocyanins**. London: Ed. Chapman and Hall, 1988.

HARBOURNE, N.; JACQUIER, J. C.; MORGAN, D. J.; LYNG, J. G. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. **Food Chemistry**, v. 111, p. 204–208, 2008.

HELDMAN, D. R. Kinetics of food quality attribute retention. **Food preservation process design**, p. 87–110, 2011b.

HEREDIA, F. J.; FRANCIA-ARICHA, E. M.; RIVAS-GONZALO, J. C.; VICARIO, I. M.; SANTOS-BUELGA, C., Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes-I. PH effect, **Food Chemistry**, v.63, p.491-498, 1998.

HOU, Z.; QIN, P.; ZHANG, Y.; CUI, S.; REN, G. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. **Food Research International**, v. 50, p. 691–697, 2013.

IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins and related flavylum salts. **Tetrahedron**, v. 39, p. 3005-3038, 1983.

JANNA, O. A.; KHAIRUL, A. K.; MAZIAH, M.; Anthocyanin stability studies in *Tibouchina semidecandra* L. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1640, 2007,

JING, P.; GIUSTI, M. M. Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. **Journal of Food Science**, v. 0, p. C1, 2007,

JU, Z. Y.; HOWARD, L. R. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grapeskin. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 270, 2005.

JURD, L. **Some advances in the chemistry of anthocyanin type plant pigments. The Chemistry of Plant Pigments**. New York: Academic Press, 1972.

KARA, S.; ERÇELEBI, E. A. Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra* L.). **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 541-547, 2013.

KECHINSKY, C. P.; NOREÑA, C. P. Z.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 75, p. c173-c176, 2010.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **J. Diet Assoc**, v. 50, p. 213-8, 1999.

KIRCA, A.; CEMEROGLU, B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. **Food Chemistry**, v.81, p.583-587, 2003.

KOBAYASHI, F.; IKEURA, H.; ODAKE, S.; HAYATA, Y. Inactivation kinetics of polyphenol oxidase using a two-stage method with low pressurized carbon dioxide microbubbles. **Journal of Food Engineering**, v. 114, p. 215-220, 2013.

KUSKOKKI, E. M.; FETT, P.; ASUERO, A. G. Antocianos: um grupo de pigmentos naturais. Aislamiento, identificación Y propiedades. **Alimentaria**, v. 2, p. 61-74, 2002.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1283-1287, 2006.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of Pigment Analyses in Cranberries. **HortScience**, v. 7, p. 83-84, 1972.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principles of biochemistry**. New York: Worth Publishers, 2006.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas**. São Paulo: Ed. Blucher, 2000.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; NOVY, M. G.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características, estrutura e estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, p. 291–297, 2007.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Inst. Plant., 2002.

LOZANO, J. E.; IBARZ, A. Colour changes in concentrated fruit pulp during heating at high temperatures. **Journal of Food Engineering**, v. 31, p. 365-373, 1997.

LUND, D. B. Effect of commercial processing on nutrients. **Food Technology**, v. 33, n. 2, p. 28-35, 1979.

LUU-THI, H.; GRAUWET, T.; VERVOORT, L.; HENDRICKX, M.; MICHIELS, C. W. Kinetic study of *Bacillus cereus* spore inactivation by high pressure high temperature treatment. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 26, p. 12-17, 2014.

MARKAKIS, P. **Stability of Anthocyanins in foods. In: Anthocyanins in color foods**. New York: Ed. Academic Press, 1982.

MARKAKIS, P.; LIVINGSTON, G. E.; FELLERS, C. R. Quantitative aspects of strawberry pigment degradation. **Food Research**, v. 22, p. 117–130, 1956.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Flórida: Boca Raton, 1993.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, p. 1254–1255, 1992.

MENDONÇA, J. N. **Identificação e isolamento de corantes naturais produzidos por actinobactérias**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

MERCALI, G. D.; GURAK, P. D.; SCHMITZ, F.; MARCZAK, L. D. F. Evaluation of non-thermal effects of electricity on anthocyanin degradation during ohmic heating of jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) juice. **Food Chemistry**, v. 171, p. 200-206, 2015.

MERCALI, G. D.; JAESCHKE, D. P.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L.D.F. Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment. **Food Chemistry**, v. 136, p. 853-857, 2013.

MINOLTA. **Precise Color Communication – Color Control, from Feeling to Instrumentation**. Minolta Camera Co. Ltd. Osaka-Japan, 1993.

MORITZ, D. E. **Produção do pigmento Manascus por (Manascus ruber) CCT 3802 em cultivo submerso**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. [s.n] Campinas, 2013.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento Experimental e Otimização de Experimentos**. 2 ed. Campinas: Unicamp, 1996.

NETTO, R. C. M. Dossiê Corantes. **Food Ingredients Brazil**, v. 2, p. 40-59, 2009.

NEVES, B. G.; PIERRO, V. S. S.; MAIA, L. C. Percepções e atitudes de responsáveis por crianças frente ao uso de medicamentos infantis e sua relação com cárie e erosão dentária. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, p. 1295 – 1300, 2006.

ORMUS, S.; OULAHAL, N.; NOËL, C.; DEGRAEVE, P.; GHARSALLAOUI, A. Effect of low methoxyl (LM) pectin complexation on the thermal and proteolytic inactivation of lysozyme: A kinetic study. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 812-818, 2015.

OTT, D. B. **Manual de laboratório de ciencia de los alimentos**. Zaragoza: Ed. Acribia S. A., 1992.

PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends of Food Science and Technology**, v. 21, p. 3–11, 2010.

PÉREZ-RAMÍREZ, I. F.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; RAMÍREZ-DE LEÓN, J. A.; ROCHA-GUZMÁN, N. E.; REYNOSO-CAMACHO, R. Effect of stevia and citric acid on the stability of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antidiabetic capacity of a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. **Food Chemistry**, v. 172, p. 885-892, 2005.

PERON, D. V. **Determinação da cinética de degradação térmica das antocianinas de espécies disponíveis na região sul e avaliação da capacidade antioxidante pré e pós-processo.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.

PERUZZO, L. C. **Extração, purificação, identificação e encapsulação de compostos bioativos provenientes do resíduo do processamento da indústria vinícola.** Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLÜCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos.** São Paulo: Ed. Varela, 2005.  
PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v.30, p.268-273, 2007.

QUEIJA, C.; QUEIRÓS, M. A.; RODRIGUES, L. M. **A cor dos Alimentos.** Química - Bol. Soc. Portuguesa Quím. v. 80, p. 6-11, 2001.

REIN, M. J. **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins.** Dissertation. (Mestrado em Engenharia de alimentos) - University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 2005.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4592, 1998.

REYES, L. F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). **Food Chemistry**, v. 100, p. 885-894, 2007.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos.** 1º Ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 2004.

RIBÉREAU-GAYON, P. **Les composés phénoliques des végétaux.** Paris: Ed. Dunod, 1968.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos.** São Paulo: Ed. Loyola, 1987.

ROCHA, D. S.; REED, E. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância para a saúde. **Estudos Goiânia**, v. 41, p. 76-85, 2014.

RUBINSKIENE, M.; VISKELIS, P.; JASUTIENE, I.; VISKELIENE, R.; BOBINAS, C. Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. **Food Research International**, v. 38, p. 867–871, 2005.

SAHOO, C.; Photocatalytic degradation of Methyl Red dye in aqueous solutions under UV irradiation using Ag<sup>+</sup> doped TiO<sub>2</sub>. **Desalination**, v. 181, p. 91-100, 2005.

SAMPAIO, P. G. **Otimização da extração, esterilização e identificação de antocianinas obtidas a partir de frutas.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP, Campinas.

SANT'ANNA, V.; BRANDELLI, A.; MARCZAKA, L. D. F.; TESSARO, I. C. Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of the extracts. **Separation and Purification Technology**, v. 100, p. 82–87, 2012.

SILVA, C. V.; BILIA, D. A. C.; MALUF, A. M.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. –Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 231-221, 2003.

SKREDE, G. et al. Color stability of strawberry and blackcurrant syrups. **Journal of Food Science**, v. 57, p. 172-177, 1992.

SLACK, N., **Vantagem Competitiva em Manufatura: atingindo competitividade nas operações industriais**. São Paulo: Ed. Atlas, 1993.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introdução à termodinâmica da engenharia química**. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, p. 71-81, 2002.

SONDHEIMER, E.; KERTESZ, Z. I. The anthocyanin of strawberries. **Journal of the American Chemical Society**, v. 70, p. 3476 - 3479, 1948.

SOUZA, R. M. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. Monografia (Graduação em Farmácia) – Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, 2012.  
STRACK, D.; WRAY, V. The Anthocyanins. In: THE FLAVONOIDS - ADVANCES IN RESEARCH, New York, 1994.

STRINGUETA, P. C. **Identificação da estrutura e estuda da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

SYVACY, A.; SÖKMEN, M.; Seasonal chances in antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin constituent of the stems of two *Morus* species (*Morus alba* L. and *Morus nigra* L.). **Plant Growth Regulation**, v. 44, p. 251, 2004,

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Surface protection and secondary defense compounds**. **Plant physiology**. New York: Ed. Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. C. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, p. 297-304, 2008.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química - UNICAMP, Campinas, São Paulo.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Espectrofotometria derivativa: uma estratégia simples para a determinação simultânea de corantes em alimentos. **Química Nova**, v.29, p. 230-233, 2006.

VIZZOTTO, M. Propriedades funcionais de pequenas frutas. **Informe Agropecuário**, v.33, p. 84-88, 2012.

WANG, W. D.; XU S. Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 271-275, 2007.

WENZEL, G. E. **Bioquímica Experimental dos Alimentos**. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 2001.

WROLSTAD, R. E.; SKREDE, G.; LEA, P.; ENERSEN, G. Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. **Journal of Food Science**, v. 55, p. 1064–1072, 1990.

YANG, Z.; HAN, Y.; GU, Z.; FAN, G.; CHEN, Z. Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.) cob. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.9, p. 341–347, 2008

ZHAI, W.; YANG. Z. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea Mays* L.) cob and identification with HPLC-MS. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 169, 2010.