



## EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS (ANTOCIANINAS) DE FRUTOS DE JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*)

Antonio Alef Pereira de Oliveira<sup>1</sup>; Max Suel Alves dos Santos<sup>2</sup>; Michela de Lima bezerra<sup>3</sup>; Layane Rosa da Silva<sup>4</sup>; Camila Sampaio Mangolim<sup>5</sup>

DOI: <https://doi.org/10.31692/IICIAGRO.0123>

### RESUMO

O jabolão é um fruto rico em compostos bioativos, especificamente as antocianinas, pouco explorado comercialmente, mas bastante conhecido no meio acadêmico devido apresentarem antocianinas que são pigmentos naturais pertencentes ao grupo dos flavonoides, que apresentam diversas propriedades biológicas, como atividade antimicrobiana e antioxidante. Pesquisas já desenvolvidas com antocianinas presentes em frutos de jabolão indicam que são compostos promissores para a substituição de corantes sintéticos na elaboração de embalagens inteligentes para alimentos, sem contar no seu alto potencial antioxidante. Uma alternativa para explorar esse fruto é realizar o processamento da polpa para então obter um extrato com potencialidade de antocianinas presente. O objetivo foi realizar a extração de compostos bioativos desse fruto não convencional, conhecido popularmente como jabolão, e com esse extrato obtido realizar sua aplicação em determinado alimento e verificar seu potencial antimicrobiano e antioxidante. O extrato de jabolão foi obtido utilizando-se polpa congelada da qual foi processada com uma solução etanólica de razão 1:1. Se faz necessário padronizar o pH para evitar perdas de propriedades bioativas durante a extração, sendo assim, uma solução de ácido clorídrico de concentração 0,01 mol/L foi feita e adicionado na solução etanólica até padronizar o pH em 2. Após a extração, foi feita a determinação do potencial de teor de antocianinas de três amostras identificados como (T1, T2, T3) de um produto de derivado lácteo, adicionados de 10 g (T1), 15 g (T2) e 20 g (T2) do extrato obtido, utilizando um tampão pH 1 (cloreto de potássio 0,025 mol/L) e um tampão pH 4,5 (acetato de sódio 0,4 mol/L). Os resultados demonstraram uma coloração entre vermelho opaco e vermelho, evidenciando assim a presença de antocianinas. Em pesquisas feitas, pesquisadores relatam que os principais metabólitos secundários encontrados nesses frutos são as antocianinas, compostos responsáveis pela intensa coloração vermelha. Para avaliar seu potencial antimicrobiano e antioxidante, foram pesadas 1 mL de cada amostra e realizada suas características microbiológicas para coliformes termotolerantes, contagem de estafilococos coagulase-positivo e presença de *Salmonella* spp. Com os resultados obtidos, pode-se observar que não houve evidências de coliformes termotolerantes, do qual não apresentou formação de gás nos tubos de Durham invertidos, após a incubação em estufa a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. Foi verificada também a ausência de estafilococos coagulase-positivo e *Salmonella* spp nas amostras analisadas. Pode-se justificar essas ausências devido as propriedades antimicrobiana e antioxidante do extrato de antocianinas obtido. Apesar de haver muitos estudos para diferentes métodos de extração, o que deve ser levado em conta é o tipo de solução eficiente, que não degrade as propriedades bioativas, o tempo, temperatura e armazenamento, todos esses fatores influenciam na extração. Portanto, o extrato de jabolão por solução etanólica e liofilizado mostrou-se uma alternativa promissora para obter um extrato com compostos bioativos, mantendo a funcionalidade das antocianinas da qual servirá para aplicação em alimentos, como corante natural com propriedades antioxidantes.

**Palavras-Chave:** Antocianinas; armazenamento; compostos bioativos; extração; método a frio

## ABSTRACT

The jambolan is a fruit rich in bioactive compounds, specifically anthocyanins, little explored commercially, but well known in academia because they present anthocyanins that are natural pigments belonging to the flavonoid group, which have several biological properties, such as antimicrobial and antioxidant activity. Researches already developed with anthocyanins present in jambolan fruits indicate that they are promising compounds to replace synthetic dyes in the development of smart packaging for food, not to mention their high antioxidant potential. An alternative to explore this fruit is to perform the pulp processing to then obtain an extract with potential anthocyanins present. The objective was to carry through the extraction of bioactive compounds of this not conventional fruit, popularly known as jambolão, and with this obtained extract to carry through its application in determined food and to verify its antimicrobial and antioxidant potential. The extract of jambolão was obtained using frozen pulp of which was processed with an ethanol solution of ratio 1:1. It is necessary to standardize the pH to avoid loss of bioactive properties during extraction, so a hydrochloric acid solution of 0.01 mol/L concentration was made and added in the ethanol solution until the pH was standardized at 2. After the extraction, the determination of the potential anthocyanins content of three samples identified as (T1, T2, T3) of a dairy derivative product was made, adding 10 g (T1), 15 g (T2) and 20 g (T3) of the obtained extract, using a buffer pH 1 (potassium chloride 0.025 mol/L) and a buffer pH 4.5 (sodium acetate 0.4 mol/L). The results showed a coloration between opaque red and red, thus evidencing the presence of anthocyanins. In researches, researchers have reported that the main secondary metabolites found in these fruits are anthocyanins, compounds responsible for the intense red coloration. To evaluate its antimicrobial and antioxidant potential, 1 mL of each sample was weighed and its microbiological characteristics were analyzed for thermotolerant coliforms, coagulase-positive staphylococci count and the presence of *Salmonella* spp. With the results obtained, it was observed that there was no evidence of thermotolerant coliforms, which did not present gas formation in the inverted Durham tubes, after incubation in an incubator at  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  for 48 hours. It was also verified the absence of coagulase-positive staphylococci and *Salmonella* spp in the analyzed samples. These absences can be justified due to the antimicrobial and antioxidant properties of the anthocyanin extract obtained. Although there are many studies for different extraction methods, what should be taken into account is the type of efficient solution, which does not degrade the bioactive properties, the time, temperature and storage, all these factors influence the extraction. Therefore, the jambolan extract by ethanolic solution and freeze-dried showed to be a promising alternative to obtain an extract with bioactive compounds, keeping the functionality of anthocyanins which will serve for application in food, as a natural dye with antioxidant properties.

**Keywords:** Anthocyanins; storage; bioactive compounds; extraction; cold method

<sup>1</sup> Me. em Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da Paraíba, [antonio.alef@academico.ufpb.br](mailto:antonio.alef@academico.ufpb.br)

<sup>2</sup> Bacharelado em Agroindústria, Universidade Federal da Paraíba, [alvesmaxsuelsantos@gmail.com](mailto:alvesmaxsuelsantos@gmail.com)

<sup>3</sup> Bacharelado em Agroindústria, Universidade Federal da Paraíba, [michelladelimabezerra@gmail.com](mailto:michelladelimabezerra@gmail.com)

<sup>4</sup> Me. Em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, [layanerossa@gmail.com](mailto:layanerossa@gmail.com)

<sup>5</sup> Professora Dra. Do Departamento PPGTA, Universidade Federal da Paraíba, [camilamangolim@gmail.com](mailto:camilamangolim@gmail.com)

## INTRODUÇÃO

Dentre os parâmetros utilizados pelo consumidor para julgar o aspecto sensorial e a saudabilidade dos alimentos, pode-se dizer que a cor está no topo da lista. Isto porque a cor

influencia diretamente na preferência, seleção e desejos de consumo de alimentos. Entretanto, apesar de os alimentos naturais possuírem intensidade de coloração própria, as condições de estocagem, práticas de manufatura e processamento, entre outros, possuem uma grande influência na sua coloração final. Sendo assim, uma vez que a cor está fortemente associada à expectativa de qualidade, a adição de corantes aos alimentos é uma forma de atender a essas expectativas e mascarar as perdas de processo e conservação (COULTATE e BLACKBURN, 2018; MARTINS et al., 2016).

A demanda por alimentos intensamente coloridos provocou a incorporação de alguns compostos químicos orgânicos e inorgânicos nos produtos alimentícios (COULTATE e BLACKBURN, 2018). Vários corantes alimentícios sintéticos foram desenvolvidos a fim de adicionar qualidade e características sensoriais específicas aos produtos. Entretanto, com o passar do tempo, vários deles foram proibidos devido a apresentarem claros efeitos colaterais, como sinais de toxicidade a curto e longo prazo, além de outros prejuízos a saúde, incluindo efeitos carcinogênicos (AMCHOVA, KOTOLOVA e RUDA-KUCEROVA, 2015). Com isso, as expectativas dos consumidores foram amplamente afetadas, mas não mudaram, uma vez que estes passaram a requerer a adição de pigmentos naturais nos alimentos em substituição aos sintéticos (MARTINS et al., 2016).

Existem numerosas vantagens no uso de corantes naturais sobre os sintéticos, principalmente devido às suas propriedades farmacológicas. Produtos coloridos com compostos naturais possuem melhor valor de mercado. Adicionalmente, o uso de corantes naturais na indústria alimentícia possui um potencial multidimensional, pois além da propriedade de colorir, carotenoides podem ser utilizados nos alimentos como uma fonte de vitaminas, antocianinas como agentes antioxidantes, entre outros (CHATTOPADHYAY, CHATTERJEE e SEN, 2008).

Sendo assim, o grande aumento na oferta de produtos com rótulos com a afirmação “sem corantes artificiais” nos supermercados sugere que o futuro dos corantes sintéticos é limitado. A natureza produz uma variedade abundante de cores, sendo que muitas delas têm sido extraídas para a aplicação como corantes. As frutas e os vegetais são naturalmente coloridos principalmente por quatro grupos de pigmentos: as clorofilas verdes, os carotenoides amarelo-laranja-vermelhos, as antocianinas vermelho-azul-roxas e as betaninas vermelhas

(RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

Antocianinas são um grupo de pigmentos flavonoides responsáveis por grande parte das cores em flores, frutas, folhas, caules e raízes de plantas. Esses pigmentos apresentam tonalidades variadas, oscilando entre o vermelho e o azul, dependendo do pH do vegetal no qual se encontram. Por exemplo, a cor vermelho brilhante é encontrada em frutas ácidas. As antocianinas são compostos solúveis em água que se apresentam, na maioria das vezes, glicosiladas com açúcares, os quais auxiliam na estabilização das moléculas (TEIXEIRA, STRINGHETA e OLIVEIRA, 2008; VALDUGA et al., 2008).

As antocianinas têm apresentado interesse científico e industrial não só pelo seu potencial como corante alimentício natural, mas também pelas suas propriedades farmacêuticas. Esses compostos apresentam cores brilhantes e atrativas, alta solubilidade em água, e várias propriedades funcionais reconhecidas devido seu caráter antioxidante, tais como: redução de doença cardíaca coronária, redução do risco de acidente vascular cerebral, atividade anticarcinogênica, efeitos anti-inflamatórios que melhoram a acuidade visual e o cognitivo-comportamental (ESTUPINÃN, SCHWARTZ e GARZÓN, 2011).

Estudos e pesquisas atuais na área de alimentos tem apresentado grande destaque para a inovação e criação de produtos mais saudáveis, derivados de elementos naturais e que possam ser adicionados nos processamentos visando um elevado nível de satisfação, além de contribuir para a saúde e bem-estar do consumidor. É com base nessas necessidades que os vegetais têm destaque como boas fontes de vitaminas e minerais, além de pigmentos que quando em forma de extratos ou outros, tornam-se subprodutos também de aplicação no setor de alimentos. Desse modo o jambolão é visto como uma boa opção, principalmente por ser um fruto rico em antioxidantes do tipo antocianinas. Esses compostos são especialmente encontrados em sua casca, na fruta madura com cerca de 731 mg/100 g de peso fresco (SANTOS, 2015).

Sendo assim, o objetivo do trabalho foi realizar a extração de compostos bioativos desse fruto não convencional, conhecido popularmente como jambolão, e com esse extrato obtido realizar sua aplicação em determinado alimento e verificar seu potencial antimicrobiano e antioxidante.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### **Jambolão (*Syzygium cumini*)**

O jambolão (*Syzygium cumini*) popularmente é denominado por diversas nomenclaturas: jamelão, jamun, jambu, amora indiana, ameixa roxa, jambo roxo, azeitona preta, manjelão, baga de freira, dentre outros. Pertence à família Myrtaceae, que englobam diversas espécies de outros frutos tropicais amplamente consumidos no Brasil como a goiaba (*Psidium guajava* L.) e a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) (ALGOSTINI, 2008), e apresenta distintas denominações científicas tais como *Myrtus cumini* Linn., *Eugênia jambolana* Lam, e *Syzygium jambolanum* (Lam.) (AYYANAR et al., 2013; RAMYA et al., 2012), dentre outras.

Possui origem na Índia, podendo ser visto também na África Oriental, América do Sul e regiões quentes dos Estados Unidos da América (RAMYA et al., 2012; AYYANA et al., 2013). No Brasil é encontrada em diversos estados das regiões Sudeste, Nordeste, Sul e Norte (MIGLIATO, 2007; BARCIA, 2009). Todavia, praticamente são inexistentes produtos derivados do jambolão no mercado brasileiro (VIZZOTO e FETTER, 2009).

Os frutos são pequenos e carnosos do tipo baga, com formato elipsoides, apresentando em média de 3 cm de comprimento e 2 cm de diâmetro. Sua casca apresenta coloração roxo escuro intenso quando maduro, polpa carnosa envolvendo uma única semente (SÁ, 2008; BALIGA et al., 2011; RAMYA et al., 2012; AYYANAR, SUBASH BABU e IGNACIMUTHU, 2013). Apresenta sabor doce, levemente amargo e adstringente, mas, agradável ao paladar (VIZZOTTO e FETTER, 2009; FARIA et al., 2011; RAMYA et al., 2012). Pertencente ao grupo de frutos em que a casca ou a pele é utilizada em conjunto com polpa (LAGO et al., 2006).

Pesquisas realizadas por Veigas et al. (2007) demonstraram a existência de glucoglucosídeos da delfinidina, petunidina e malvidina. O alto teor de antocianinas apresentados no jambolão são similares ao teor detectado nos *blueberries*, que há pouco tempo foi anunciada como a primeira *commodity* nutracêutica de elevada importância comercial. Os resultados explicitados indicam que a alta atividade antioxidante do extrato de jambolão, juntamente ao grande potencial corante, com atributos apetecíveis de solubilidade e estabilidade, seriam capazes incentivar a inclusão do extrato como aditivo natural para ser utilizado tanto em alimentos como em formulações farmacêuticas (VEIGAS et al., 2007;

AGOSTINI e SILVA, 2008).

### **Compostos bioativos**

Os mais relevantes compostos bioativos são as vitaminas e os metabólitos secundários (DEMBITSKY et al., 2011). Os metabólitos secundários podem ser definidos como compostos orgânicos que, ainda que não estejam prontamente conectado ao crescimento e desenvolvimento vegetal, demonstram relevante papel no resguardo das plantas contra herbívoros, infecção por microrganismos patogênicos e tem ação atrativa (odor, cor e sabor) para animais polinizadores. Compreendem compostos fenólicos, terpenos e compostos nitrogenados (AZMIR et al., 2013). Todavia, o organismo humano não possui a capacidade de sintetizar os compostos bioativos, desse modo a fonte desses é proveniente da dieta alimentar com vegetais (ROCHA, 2011).

Pesquisas reafirmam que a existência de compostos fenólicos concede as frutas características antioxidantes, antienzimáticas e antimicrobianas, e sua ingestão tem sido coligado à diminuição do risco de diversas enfermidades (RAO e RAO, 2007; BASTOS et al., 2015; PAZ et al., 2015).

### **Antocianinas e sua estabilidade**

Quimicamente, são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides, sua molécula trata-se de um cation flavinium muito reativo, com maior estabilidade em condições ácidas e capazes de se complexarem com íon metálicos. Dessa forma, as antocianinas conseguem se aderir à macromoléculas, como proteínas e polissacarídeos, e atuar como antioxidante. A coloração dessas depende, especialmente, da quantidade de hidroxilas (OH) ou metilas (CH<sub>3</sub>) ligados ao anel B da molécula (KERAUY, 2012; FENNEMA, DAMODARAN e PARKIN, 2010; SAAVEDRA, 2008).

Quando falamos de estabilidade das antocianinas estamos nos referindo à sua coloração, que segundo Constant, Stringheta e Sandi (2003) a cor das soluções de antocianinas depende de uma série de fatores como concentração, tipo de solvente, temperatura, pH, estrutura do pigmento, presença de substâncias capazes de reagir reversível ou irreversivelmente com a antocianina, entre outros. Timberlake (2009) afirma que a baixa estabilidade durante o

processamento e armazenamento está relacionada à fatores como pH, temperatura e a luz. Elas degradam facilmente em temperaturas acima de 40 °C.

Pesquisas já realizadas apresentam a quantidade de antocianinas totais em alguns frutos. Por exemplo, o caju 7,6 mg/100 g bs e o mamão com teor de antocianinas de 1,87 mg/100 g bs (base seca) Bobinaité et al. (2012). O perfil de antocianina detectada nas frutas também varia conforme o tipo de fruta estudada. Nos frutos de camu-camu pode-se detectar existência da antocianina cianidina-3- glicosídeo (FRACASSETTI et al. 2013); pelargonidina e cianidina foram detectadas em morangos (PINTO et al., 2008). Já os frutos de jambolão demonstram a presença de quantidades elevadas das antocianinas delfinidina 3,5 diglicosídeo, cianidina 3,5 diglicosídeo, petunidina 3,5 diglicosídeo, delfinidina 3 glicosídeo e malvidina 3,5 diglicosídeo (BRITO et al., 2007; FARIA et al., 2011).

Além das pesquisas realizadas na polpa *in natura* também é possível encontrar na literatura dados a respeito do teor de antocianina em extratos de jambolão. Extratos etanólicos analisados por Borges (2011) apresentaram 487,7 mg/100 g de antocianinas. Correia et al. (2012) ao estudar o extrato metanólico e fazer uma pesquisa mais aprofundada detectou uma grande quantidade (90,50 mg/100 g) de cianidina.

Pesquisas realizadas por Veigas et al. (2007) em frutos de jambolão detectaram a presença de alto teor de antocianinas (230 e 229 mg/100 g). Esses valores indicam que a atividade antioxidante do extrato etanólico de jambolão, combinados à grande habilidade corante do mesmo e seus atributos singulares de solubilidade e estabilidade, podem ser utilizados como aditivo natural em alimentos e em formulações farmacêuticas.

Além de pesquisas de identificação e quantificação das antocianinas também é possível encontrar pesquisas relacionadas à estabilidade e métodos de retardo da degradação dos pigmentos antocianinicos; pode-se citar a copigmentação como um dos processos que segundo Rein (2005) além de preservar a coloração, pode aumentá-la.

### **Corantes naturais**

Os corantes naturais podem ser categorizados em três principais grupos: as substâncias heterocíclicas com estrutura tetra-pirrólica, que compreendem as clorofilas existentes em vegetais, o heme e as bilinas presentes em animais; as substâncias de estrutura isoprenoide,

correspondente aos carotenoides, existentes particularmente em vegetais; e os compostos heterocíclicos incluindo o oxigênio como os flavonoides, que são encontrados exclusivamente em vegetais.(BOBBIO e BOBBIO, 2003). A ANVISA informa na resolução de nº 44 , que os corantes naturais liberados para uso no Brasil são por exemplo: açafrão, ácido carmínico, antocianinas, entre outros (BRASIL, 2001).

As antocianinas são evidenciadas por conceder coloração vermelha, roxa e azul. Como atributo de sua solubilidade, por ser de natureza polar, elas são solúveis em água ou solventes orgânicos polares (MACRAE et al., 1993). Dentre as antocianinas mais comuns destacam-se a pelargonidina, cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina e petunidina (BOBBIO e BOBBIO, 2003). Corantes retirados de fontes naturais, além de desempenhar a finalidade, propicia cor aos alimentos, possuem atividades biológicas relevantes e efeitos benéficos para a saúde. Geralmente são compostos bioativos e estão ligados à atividade antioxidante (CACACE e MAZZA, 2002; VALLS et al., 2009; PAIK et al., 2012; HASLER, 2000; LAJOLO, 2002).

## METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no laboratório de pesquisas do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal da Paraíba, no Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias- PPGTA/UFPB/CCHSA. Os jambolões (3,400 kg) da cultivar (*Syzygium cumini*) foram lavadas com água por imersão e, em seguida, sanitizadas com solução de hipoclorito de sódio 20 ppm por 10 min. Posteriormente, foram secas e feita a separação da polpa e do caroço , totalizando um total de 1,129 kg de polpa, que em seguida foram trituradas em liquidificador industrializado, com água (150 mL de água para 400 g de jambolão) (GARCIA, 2017). Para a extração das antocianinas, foi utilizada uma razão de 1:1 da fruta triturada com uma solução etanólica (30 – 70%) em pH 2 (regulado com HCl 0,1 mol/L). Em seguida, a mistura foi submetida à agitação em agitador magnético por (90 min). Após a extração, a mistura foi filtrada e centrifugada a 4000 rpm por 10 min, foi utilizado primeiramente filtro e uso de funil convencional, para melhor remoção do substrato/remoção do resíduo, em seguida se fez necessário utilizar a centrífuga para melhor obtenção do sobrenadante. Após a centrifugação, o extrato foi concentrado a 50% do volume inicial em rota-evaporador a 40 °C e protegido de iluminação. Obtivemos 2 litros e

62 ml do extrato filtrado do qual foi retirado 1 litro e 31 ml da solução etanólica. Depois foi armazenado no ultrafreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante 48h. Passado esse período, o extrato foi submetido a liofilização por 72h e depois armazenado novamente no ultrafreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

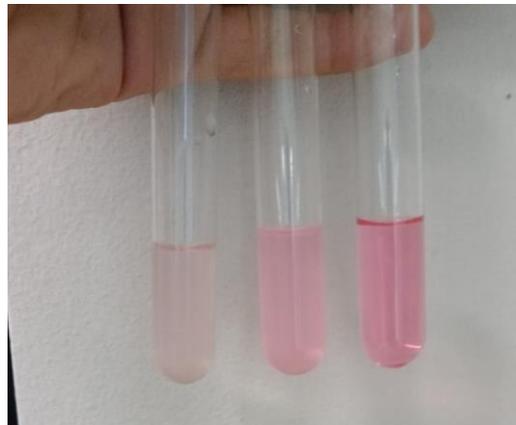
Com relação ao preparo das amostras para determinação de potencial de antocianinas, seguiu os métodos do DDPH com adaptações. Foi pesado 5 g de cada amostra (T1, T2 e T3) para 2,5 mL de etanol, depois centrifugado em 800 rpm por 15 minutos, em seguida foi retirado 1 mL do sobrenadante para futuras leituras a 520 nm e a 700 nm no espectrofotômetro. Foram feitos dois tampões pH 1, e pH 4,5. Para o tampão de pH 1 utilizamos (cloreto de potássio 0,025 mol/L): onde foi pesado 1,86 g de KCl em um béquer e adicionado cerca de 980 mL de água destilada. Depois foi medido o pH e ajustado até 1 com HCl (aproximadamente 6,3 mL). Em seguida transferido para um balão de 1 L e completado com água destilada. Para o tampão de pH 4,5 utilizamos (acetato de sódio 0,4 mol/L): 54,43 g de  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  em um béquer e adicionado cerca de 960 mL de água destilada. Depois medido o pH e ajustado para 4,5 com HCl (cerca de 20 mL). Depois, transferido para um balão de 1 L e completado com água destilada. Os resultados demonstraram uma coloração vermelho opaco para a amostra com 10g, vermelho mais vivo na amostra contendo 15 g e vermelho intenso para a amostra adicinada de 20 g, que podem ser observados na Figura 01. Evidenciando assim a presença de antociniais. Em pesquisas feitas são relatadas que os principais metabólitos secundários encontrados nesses frutos são as antocianinas, compostos responsáveis pela intensa coloração vermelha.

Para avaliar seu potencial antimicrobiano e antioxidante, foram pesadas 1 mL de cada amostra do produto lácteo que recebeu em sua formulação a adição do extrato com potencial de antocianinas do qual foi realizado suas características microbiológicas. Para a enumeração de coliformes termotolerantes, adotou-se a técnica do Número Mais Provável (BRASIL, 2003). Para a prova presuntiva, as amostras foram inoculadas em caldo lauril sulfato de sódio, na quantidade de 1 mL das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , em séries de três tubos analisados após a incubação em estufa a  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Os resultados podem ser observados na Tabela 01.

Com relação a contagens de coagulase-positivo, foi determinado seguindo a metodologia por SILVA et al. (2001). Os resultados podem ser observados na Tabela 02.

A análise realizada referente à pesquisa de *Salmonella* ssp, foi utilizada a metodologia adaptada pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFPB/CCHSA, que utiliza como referência os Métodos Analíticos oficiais para análise microbiológicas para controle de produtos de origem animal e vegetal, da Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Os resultados obtidos foram ausência de *Salmonella* ssp para ambas as amostras T1, T2 e T3.

**Figura 01:** Coloração determinada dos extratos com potencial de antocininas presente.



**Fonte:** Própria (2022).

Da esquerda para a direita, a amostra com 10 g (T1) apresentou uma coloração vermelho opaco, na sequência a amostra com 15 g (T2) apresentou cor vermelho mais vivo, e na amostra contendo 20 g (T2) apresentou uma coloração de vermelho mais intenso.

**Tabela 01:** Enumeração de coliformes termotolerantes.

	-1	-2	-3
<b>T1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>T2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>T3</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Fonte:** Própria (2022).

**Tabela 02:** Enumeração de contagens de coagulase-positivo.

	-1	-2	-3
<b>T1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>T2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>T3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Fonte:** Própria (2022).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de extração realizado por meio de solução etanólica quando comparada com outros métodos extrativos já realizados, como por exemplo, extração por Soxhlet, nos remete possivelmente uma melhor extração, isso porque o método de extração por Soxhlet é considerado muito convencional e devido utilizar altas temperaturas e longa duração de tempo durante a extração, que prejudicam o desempenho, gerando perdas das propriedades bioativas, e devido o seu alto custo (WANG, 2010). É importante salientar que o uso de solventes de acidez demasiadamente elevada (superior a 1% de ácido clorídrico) pode resultar em hidrólise parcial das antocianinas aciladas e, conseqüentemente, na estimativa incorreta do teor de antocianinas total (Revilla et al, 1989). Assim, o método usualmente empregado para obter o extrato bruto consiste em tratar a matéria-prima com etanol com 1% de HCl (Revilla et al, 1989). Alguns métodos empregam etanol em substituição ao metanol pela menor toxicidade, esse procedimento é recomendado especialmente quando a extração se faz com fim alimentício. Embora Francis (1982) afirme que a extração com metanol seja mais eficiente, Silva (1996) demonstrou não haver diferença quando realizada extração com qualquer dos solventes. Atualmente não existe na literatura um método padrão para a extração, entretanto pesquisas desenvolvidas alertam sobre a extração de antocianinas quando elevadas a altas temperaturas acima de 40°C e exposta por muito tempo a luminosidade, pois acabam degradando as suas propriedades bioativas.

Os principais cuidados efetuados durante todo o processo de extração das antocianinas foi justamente diminuir o tempo de processamento, evitando temperaturas acima de 40°C, trabalhando em ambiente climatizado, os frascos e recipientes utilizados cobertos com papel laminado, a fim de evitar o contato direto da luz com o extrato.

Para o método de extração com solução etanólica, foi-se utilizado o rota-evaporador com temperatura de 40°C em sala climatizada com janelas fechadas. Ao final do processo ainda

se pode observar uma perda de 78 mL, não significativa, pois em determinadas etapas se teve uma perda maior de água da solução etanólica (etanol + água), obtendo ao final um volume de 953 mL do extrato.

O extrato foi armazenado em congelamento rápido a  $-80^{\circ}\text{C}$ . O congelamento está entre os métodos mais populares e eficientes de preservação de alimentos (KIANI; SUN, 2011). A parte de transição de fase do processo de congelamento envolve a conversão de água em gelo por meio do processo de cristalização e é a etapa chave para determinar a eficiência do processo e a qualidade do produto congelado (KIANI; SUN, 2011; QIU et al., 2020).

Segundo Dempsey e Bansal (2012), o congelamento lento produz grandes cristais de gelo, desenvolvem-se através das paredes das células, permitindo que ocorra a entrada de oxigênio, ocasionando rancidez aumentando o risco de gotejamento avançado no descongelamento. A formação de cristais de gelo maiores e a distribuição desigual no tecido alimentar podem romper irreversivelmente a estrutura celular, causando alterações nas propriedades sensoriais e perda de nutrientes (ZHU; ZHOU; SUN, 2019). O congelamento rápido em temperaturas muito baixas garante a qualidade nutricional, bem como o sabor e a textura dos alimentos, devido à formação de pequenos e uniformes cristais de gelo. Taxas de congelamento ultra-altas podem ser obtidas usando nitrogênio líquido (STINCO et al., 2013).

Haiying, Shaozhi e Guanguiming (2007), avaliaram as propriedades relevantes de congelamento de quatro tipos de vegetais, cogumelo, couve-flor verde, feijão-marinho e vagem de ervilha e o estudo demonstrou que o congelamento mais rápido produziria cristais de gelo menores, o que traria menos danos às microestruturas. Portanto, o congelamento rápido é necessário para manter a qualidade dos alimentos, uma vez que produz pequenos cristais de gelo (DEMPSEY; BANSAL, 2012; HAIYING; SHAOZHI; GUANGUIMING, 2007; ZHU; Kono et al. (2017), verificaram que o congelamento rápido tem influência significativa na superfície do filé de salmão, e um número de pequenos cristais de gelo com uma pequena área de proporção dentro da camada superficial foi observado em amostras congeladas rapidamente, ao contrário dos grandes cristais de gelo com uma grande proporção entre as amostras congeladas normais.

Sendo assim, as amostras foram armazenadas em um ultrafreezer de modelo MDF-U33V-PA, Panasonic, temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ . Se fez necessário armazenar no ultrafreezer do

qual é capaz de inibir qualquer reação enzimática, e destinado ao acondicionamento de amostras sensíveis a decomposição durante o armazenamento, podendo assim permanecer por um longo período de tempo. A seguir, é possível observar nas Figuras 01, 02, 03 e 04 as etapas de processamento realizadas para obtenção do extrato de antocinianas.

**Figura 01:** A esquerda fruto do jambolão com polpa e caroço higienizados, e a direita fruto despolpado.



**Fonte:** Própria (2022)

**Figura 02:** A esquerda filtração convencional, e a direita extrato centrifugado.



**Fonte:** Própria (2022).

**Figura 03:** A esquerda extrato no rota-evaporador, e a direita evaporação da solução etanólica.



**Fonte:** Própria (2022).

**Figura 04:** Extrato levado para o liofilizador de bancada por e liofilizado por 72h.



**Fonte:** Própria (2022).

Com relação ao potencial do teor de antocianinas os resultados demonstraram uma coloração avermelhada nas amostras, onde a amostra T3 apresentou coloração vermelha mais intensa. Evidenciando assim a presença de antocianinas. Em pesquisas feitas foi relatado que os principais metabólitos secundários encontrados nesses frutos são as antocianinas, compostos responsáveis pela intensa coloração vermelha. Esses pigmentos conferem diferentes tonalidades de cor, oscilando entre vermelho, laranja e roxo, de acordo com condições intrínsecas, como o pH, encontradas nos vegetais (Brouillard,1983). Ainda, segundo estudo de BRIDLE et al. (1997), as antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal, e são estudadas em todo o mundo como agentes da coloração natural em alimentos, sendo elas as responsáveis pelos tons compreendidos desde a coloração vermelha até a coloração azul em muitas frutas, legumes e hortaliças (MAZZA & MINIATI, 1993). Estudo

feito por BOBBIO e TERCIO (2002), apontam também uma característica marcante das antocianinas, que está no fato de que em soluções aquosas, apresentam diferentes estruturas em função do pH. De modo geral, em meio extremamente ácido (pH entre 1-2), as antocianinas apresentam coloração intensamente avermelhada devido ao predomínio da forma cátion flavílica ( $AH^+$ ). Do qual essa coloração avermelhada foi identificada em nosso extrato obtido. Entretanto, ressaltamos que, o método DPPH apesar de ser bastante utilizado para avaliação da capacidade antioxidante, essa avaliação antioxidante não deve se basear apenas em uma única metodologia, sendo necessários outros métodos para caracterizar completamente um composto como antioxidante, como o método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), ORAC (Oxygen radical absorbance capacity), FRAP (Ferric-Reducing Ability of Plasma), TRAP (Total Radical - Trapping Antioxidant Parameter), CUPRAC (Cupric ions  $Cu^{2+}$  reducing antioxidant power) e métodos de peroxidação lipídica (Ciesla et al., 2012; Moon; Shibamoto, 2009).

Com relação as características microbiológicas, foi verificada a ausência de Salmonella, de estafilococos coagulase-positivo e de coliformes termotolerantes em todas as amostras. Pode-se justificar a ausência pelo processamento rigoroso de controle de boas práticas de fabricação de alimentos realizado durante a etapa de produção do produto lácteo, e por as antocianinas apresentarem propriedades antimicrobianas e antioxidante. Segundo Cushnie e Lamb (2005), durante séculos preparações contendo flavonoides e os constituintes fisiologicamente ativos foram usados por médicos e curandeiros na tentativa de travar diversas doenças humanas. Cushnie & Lamb (2005) relatam em seus estudos que as propriedades antimicrobianas do própolis foram atribuídas principalmente aos seus flavonoides galangina e pinocembrin. A erva chinesa Scutellaria baicalensis constitui um outro exemplo destas propriedades (Cushnie & Lamb, 2005). Entretanto, por outro lado, o aumento da utilização de agentes antifúngicos também resultou no desenvolvimento de resistência aos mesmos, tornando-se necessário descobrir novas classes de produtos, nomeadamente de origem natural. As plantas e frutas são fontes ricas de uma grande variedade de metabolitos ativos tais como, taninos, terpenoides, alcaloides e flavonoides que têm sido relatados devido às suas propriedades antifúngicas testadas in vitro (Arif et al., 2011; Salas et al., 2011; Serpa et al., 2012). A atividade antifúngica deve-se provavelmente à capacidade destes compostos em formar complexos com proteínas

solúveis presentes nas paredes das células fúngicas (Arif et al., 2011). De modo geral, o efeito antibacteriano dos flavonoides deve-se também à atribuição de grupos fenólicos hidroxilo que apresentam afinidade para as proteínas e, por essa razão, atuam como inibidores de enzimas bacterianas, assim como interferem nas suas vias de síntese (Alcaráz et al., 2000; Àvila, et al., 2008; Li et al., 2012 Sato et al., 1995). Recentemente, diversos flavonoides demonstraram ser capazes de inibir a formação de biofilmes de *Streptococcus mutans*, *Aeromonas hydrophila* e *Escherichia coli* O157:H7 (Lee et al., 2011).

A atividade antioxidante é uma das suas propriedades mais estudadas neste grupo de compostos (Harborne & Williams, 2000). Os flavonoides demonstraram ter ação inibidora de diversas espécies oxidantes como anião superóxido ( $O_2^-$ ), radicais hidroxil e peroxi (Sandhar et al., 2011). De uma forma geral, a atividade antioxidante está relacionada com a estrutura do flavonoide, dependendo assim do número de substituintes hidroxil que apresenta na sua constituição. Assim, quanto maior o número de substituintes hidroxilo, mais forte será a atividade do composto flavonoide (Havsteen, 2002). Ainda de acordo com Havsteen (2002), existem numerosas enzimas inibidas pelos flavonoides tais como, hidrolases, isomerases, oxidoreduases, ADN (ácido desoxirribonucleico) sintetases, ANR (ácido ribonucleico) polimerases, fosfatases, oxigenases, entre outras.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os flavonoides têm sido alvo de muitas pesquisas nos últimos anos, tendo sido relatada uma enorme variedade de potenciais efeitos benéficos, sabe-se que depois da clorofila, as antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal. Avaliar a potencialidade dos processos de extração e utilização em alimentos permanece ainda um campo aberto à investigação científica. O potencial de impacto da pesquisa nos vários âmbitos técnico, científico e inovação é bastante amplo. Sendo assim, o presente estudo apresentou, por meio da pesquisa científica e desenvolvimento tecnológico, oferecer ao mercado a possibilidade inovadora de obtenção de um corante natural, com propriedades bioativas, e que seja possível de ser utilizado pelo mercado por ter sido extraído com uma tecnologia que permite o aumento da sua estabilidade e aplicabilidade, mantendo as suas propriedades bioativas.

## REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis lambrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 394-400, 2007.

Alcaráz, L.E., Blanco, S.E., Puig, O.N., Tomás, F., Ferreti, F.H. (2000). Antibacterial Activity of Flavonoids Against Methicilin – resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J. theor. Biol.*, 205, pp. 231 – 240.

AMCHOVA, P.; KOTOLOVA, H.; RUDA-KUCEROVA, J. Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, p. 914-922, 2015.

Arif, T., Mandal, T.K., Dabur, R. (2011). Natural products: Anti – fungal agents derived from plants. Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry, 81, pp. 283 – 311.

Bobbio, P. A.; Bobbio, F. O.; *Química de processamento de alimentos*, Varela: São Paulo, 3ª ed., 2001.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. *Food Chemistry*, v.58, n.1-2, p.103-109, 1997.

CARVAJAL, A. E. S. S.; KOEHNLEIN, E. A.; SOARES, A. A.; ELER, G. J.; NAKASHIMA, A. T. A.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Bioactives of fruiting bodies and submerged culture mycelia of *Agaricus brasiliensis* (*A. blazei*) and their antioxidant properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, p. 493-499, 2012.

CHATTOPADHYAY, P.; CHATTERJEE, S.; SEN, S. K. Biotechnological potential of natural food grade biocolorants. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 2972-2985, 2008.

CIEŚLA, Ł. et al. Approach to develop a standardized TLC-DPPH test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 70, n. 0, p. 126-135, 2012.

COULTATE, T.; BLACKBURN, R. S. Food colorants: their past, present and future. **Coloration Technology**, v. 0, p. 1-21, 2018.

Cushnie, T., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, pp. 343 – 356.

DANTAS, A. G.; ALVES, A. C. S.; SOARES, F. C.; MIGUEL, J. G. S.; ALVES, G. S. Diagnóstico microbiológico da *Vitis lambrusca* comercializada em estabelecimentos formais e feiras livres em João Pessoa, Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, p. 802-805, 2017.

DEMPSEY, P.; BANSAL, P. The art of air blast freezing: Design and efficiency considerations. *Applied*

Thermal Engineering, v. 41, p. 71-83, 2012. doi:  
10.1016/j.applthermaleng.2011.12.013.

ESTUPIÑAN, D. C.; SCHWARTZ, S. J.; GARZÓN, G. A. Antioxidant activity, total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with andes berry (*Rubus glaucus* benth) anthocyanin powder. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 26-34, 2011.

ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis lambrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 394-400, 2007.

CARVAJAL, A. E. S. S.; KOEHNLEIN, E. A.; SOARES, A. A.; ELER, G. J.; NAKASHIMA, A. T. A.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Bioactives of fruiting bodies and submerged culture mycelia of *Agaricus brasiliensis* (*A. blazei*) and their antioxidant properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, p. 493-499, 2012.

CHATTOPADHYAY, P.; CHATTERJEE, S.; SEN, S. K. Biotechnological potential of natural food grade biocolorants. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 2972-2985, 2008.

COULTATE, T.; BLACKBURN, R. S. Food colorants: their past, present and future. **Coloration Technology**, v. 0, p. 1-21, 2018.

DANTAS, A. G.; ALVES, A. C. S.; SOARES, F. C.; MIGUEL, J. G. S.; ALVES, G. S. Diagnóstico microbiológico da *Vitis lambrusca* comercializada em estabelecimentos formais e feiras livres em João Pessoa, Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, p. 802-805, 2017.

ESTUPIÑAN, D. C.; SCHWARTZ, S. J.; GARZÓN, G. A. Antioxidant activity, total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with andes berry (*Rubus glaucus* benth) anthocyanin powder. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 26-34, 2011.

GARCIA, Y. M. **Extração de corante natural do resíduo da uva isabel (*Vitis vinifera*) via solvente hidroalcoólico**. 2017, 67f. Monografia (Conclusão de curso) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, RN.

HAIYING, W.; SHAOZHI, Z.; GUANGMING, C. Experimental study on the freezing characteristics of four kinds of vegetables. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 6, p. 1112-1116, 2007.

Harborne, J.B., Williams A.C. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, pp. 401 – 504.

Havensteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, 96, pp. 67 – 202.

He, F., Mu, L., Yan, G.-L., Liang, N.-N., Pan, Q.-H., Wang, J., Reeves, M.J., Duan, C.-Q. (2010). Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes. *Molecules*, 15: 9057-9091.

KIANI, H.; SUN, D. W. Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, v. 22, p. 407- 426, 2011. doi: 10.1016/j.tifs.2011.04.011.

KONO, S.; KON, M.; ARAKI, T.; SAGARA, Y. Effects of relationships among freezing rate, ice crystal size and color on surface color of frozen salmon fillet. *Journal of Food Engineering*, v. 214, p. 158-165, 2017.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, v. 88, p. 1269-1278, 2005.

Lee, J.H., Regmi, S.C., Kim, J.A., Cho, M.H., Yun, H., Lee, C.S., Lee, J. (2011). Apple Flavonoid Phloretin Inhibits Escherichia coli O157:H7 Biofilm Formation and Ameliorates Colon Inflammation in Rats. *Infection and Immunity*, 79(12), pp. 4819 – 4827.

MAHDAVI, S. A.; JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; DEHNAD, D. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 85, p. 379-385, 2016.

MARTINS, N.; RORIZ, C. L.; MORALES, P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industrial to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, v. 52, p. 1-15, 2016.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Licopeno encapsulado em goma arábica e maltodextrina: estudo da estabilidade. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 5, p. 197-203, 2002.

MAZZA, G.; MINIATI, E., Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. CRC Press, London, 1993, 362 p.

NISHIYAMA, M. F.; COSTA, M. A. F.; COSTA, A. M.; SOUZA, C. G. M.; BÔER, C. G.; BRACHT, C. K.; PERALTA, R. M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, p. 191-196, 2010.

OLIVEIRA FILHO, F. A. Produção, área colhida e efetivo de uva no Nordeste. *Informe Rural ETENE*, ano V, n. 5, 2016.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, beta-cyclodextrin and modified starch. *Food Chemistry*, v. 125, p. 913-922, 2011.

PASSOS, A. P. S.; MADRONA, G. S.; MARCOLINO, V. A.; BAESSO, M. L.; MATIOLI, G. The use of thermal analysis and photoacoustic spectroscopy in the evaluation of maltodextrin microencapsulation of anthocyanins from açuara palm fruit (*Euterpe edulis* Mart.) and their application if food. *Food Technology and Biotechnology*, v. 53, p. 385-396, 2015.

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. Food Science and Technology*, v. 21, p. 3-11, 2010.

ROBERT, P.; GORENA, T.; ROMERO, N.; SEPULVEDA, E.; CHAVEZ, J.; SAENZ, C. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 1386-1394, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Natural food pigments and colorants. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 20-26, 2016.

Sandhar, H.K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., Sharma, P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), pp. 25 – 41.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de casca de uvas niágara e isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p; 59-64, 2008.

STINCO, C. M.; FERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, R.; HEREDIA, F. J.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J; VICARIO, I. M. Bioaccessibility, antioxidant activity and color of carotenoids in deep-frozen orange juices: Influence of thawing conditions. *LWT - Food Science and Technology*, v. 53, n. 2, p. 458-463, 2013.

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

Terci, D. B. L.; Rossi, A. V.; *Quim. Nova* **2002**, 25, 685.

TOLUN, A.; ALTINTAS, Z.; ARTIK, N. Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. **Journal of Biotechnology**, v. 239, p. 23-33, 2016.

VALDUGA, E.; LIMA L.; DO PRADO, R.; PADILHA, F. F.; TREICHEL, H. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva isabel (*Vitis lambrusca*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1568-1574, 2008.

ZHU, Z.; ZHOU, Q.; SUN, D. W. Measuring and controlling ice crystallization in frozen foods: A review of recent developments. *Trends in Food Science and Technology*, v. 90, p. 13 - 25, 2019.