

APLICAÇÃO DE UM MÉTODO SUSTENTÁVEL PARA A EXTRAÇÃO DE PIGMENTOS DE LARANJA TAROCCO

APPLICATION OF A SUSTAINABLE METHOD FOR THE EXTRACTION OF TAROCCO ORANGE PIGMENTS

Débora Piovesan de Moraes¹, Carla Andressa Almeida Farias², Daniele de Freitas Ferreira³, Juliano Smanioto Barin⁴, Cristiano Augusto Ballus⁵, Milene Teixeira Barcia^{6*}

¹Universidade Federal de Santa Maria, Centro das Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Bairro Camobi, 97105-900 - Santa Maria - RS – Brasil. . E-mail: deborapiovesandemoraes@hotmail.com

²Universidade Federal de Santa Maria, Centro das Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Bairro Camobi, 97105-900 - Santa Maria - RS – Brasil. . E-mail: carlaaafarias@gmail.com

³Universidade Federal de Santa Maria, Centro das Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Bairro Camobi, 97105-900 - Santa Maria - RS – Brasil. E-mail: danieldef.f@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Santa Maria, Centro das Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Bairro Camobi, 97105-900 - Santa Maria - RS – Brasil. . E-mail: juliano@ufsm.br

⁵Universidade Federal de Santa Maria, Centro das Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Bairro Camobi, 97105-900 - Santa Maria - RS – Brasil. . E-mail: cristiano.ballus@ufsm.br

⁶Universidade Federal de Santa Maria, Centro das Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Bairro Camobi, 97105-900 - Santa Maria - RS – Brasil. . E-mail: milene.barcia@ufsm.br

RESUMO

A laranja Tarocco é uma das variedades de laranjas vermelhas que possuem em sua composição pigmentos da classe das antocianinas, que apresentam coloração avermelhada, além dos carotenoides que são comumente encontrados em laranjas, e são responsáveis pela coloração amarela. A extração desses pigmentos é realizada tradicionalmente com solventes orgânicos, que podem ser nocivos à saúde e ao meio ambiente. Devido às desvantagens da utilização de solventes orgânicos para a extração de pigmentos de frutas, esse trabalho teve como objetivo verificar se o micro-ondas de hidrodifusão e gravidade promove a remoção dos pigmentos da laranja Tarocco sem adicionar solventes. Apesar de não remover totalmente os pigmentos da laranja, uma concentração satisfatória de pigmentos foi extraída (12,03% de antocianinas monoméricas totais e 29,37% para carotenoides totais), considerando-se que nenhum solvente foi adicionado no processo. O melhor preparo de amostra foi para a amostra refrigerada, onde se extraiu quatro vezes mais carotenoides totais ($0,38 \pm 0,03$ mg de β -caroteno/100 g), e encontrou-se o dobro de antocianinas monoméricas totais ($0,16 \pm 0,04$ mg de cianidina-3-glicosídeo/100 g) comparada com a amostra congelada, que conferiram ao extrato uma tonalidade mais avermelhada. Portanto, o MHG mostra-se como um método de extração sustentável promissor por conseguir remover os pigmentos da laranja Tarocco sem que seja necessária a adição de solvente.

Palavras-chave: Micro-ondas de hidrodifusão e gravidade, MHG, antocianinas monoméricas totais, carotenoides totais.

ABSTRACT

The Tarocco orange is one of the varieties of red oranges that have in its composition pigments of the anthocyanins class, which present a reddish coloration, besides the carotenoids that are commonly found in oranges, and are responsible for the yellow coloration. The extraction of these pigments is traditionally performed with organic solvents, which can be harmful to health and to the environment. Due to the disadvantages of using organic solvents for the extraction of fruit pigments, this work aimed to verify if microwave hydrodiffusion and gravity promotes the removal of Tarocco orange pigments without adding solvents. Despite not completely removing the orange pigments, a satisfactory concentration of pigments was extracted (12.03% of total monomeric anthocyanins and 29.37% for total carotenoids), considering that no solvent was added in the process. The best sample preparation was for the refrigerated sample, where four times more total carotenoids were extracted (0.38 ± 0.03 mg of β -carotene/100 g), and twice as many total monomeric anthocyanins were found (0.16 ± 0.04 mg of cyanidin-3-glycoside/100 g) compared to the frozen sample, which gave the extract a redder

hue. Therefore, MHG shows as a promising sustainable extraction method as it can remove the Tarocco orange pigments without the addition of solvent.

Keywords: Microwaves hydrodiffusion and gravity, MHG, total monomeric anthocyanins, total carotenoids.

1. INTRODUÇÃO

As laranjas sanguíneas são variedades de laranjas com características diferenciadas por apresentarem a polpa com tonalidade avermelhada. Entre as cultivares desse tipo de laranja as mais cultivadas são as laranjas Moro, Sanguinello e Tarocco, sendo essa última a que apresenta coloração menos intensa de vermelho. Além das antocianinas, as laranjas sanguíneas também apresentam conteúdo significativo de carotenoides, resultando em uma coloração entre amarelo-alaranjada, avermelhada ou vermelho intenso (Cebadera-Miranda et al., 2019).

A extração de antocianinas e de carotenoides é realizada comumente com solventes orgânicos, que podem ser nocivos à saúde, além de gerarem grandes quantidades de resíduos que necessitam de tratamento adequado ou podem vir a causar poluição ambiental. Devido às desvantagens dos métodos tradicionais de extração de pigmentos naturais, tem-se buscado outros meios para extraí-los, como os métodos verdes que buscam obter extratos ricos nesses compostos, porém de modo mais sustentável (Garcia-Salas et al., 2010). Uma alternativa sustentável para remover os pigmentos de frutas é o uso do micro-ondas de hidrodifusão e gravidade (MHG). Além de ser uma técnica verde, o MHG apresenta outras vantagens como a alta velocidade de extração, o baixo consumo de energia e os baixos níveis de contaminantes presentes no extrato, ocasionados provavelmente pelo contato limitado com o exterior da fruta e o tempo reduzido de exposição a altas temperaturas (Bittar et al., 2013).

Devido aos fatos acima mencionados, o objetivo do seguinte trabalho foi verificar se o MHG é capaz de realizar a extração de carotenoides totais e antocianinas monoméricas totais de laranja sanguínea sem que seja necessário adicionar nenhum tipo de solvente, comparando o teor de pigmentos extraídos por essa tecnologia com os métodos tradicionais. Além disso, buscamos identificar se o preparo de amostra influencia no teor de pigmentos extraídos e na cor dos extratos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e preparo das amostras

As laranjas sanguíneas da variedade Tarocco foram obtidas com produtores rurais da cidade de Frederico Westphalen, RS. As amostras foram acondicionadas de maneiras distintas antes da extração por MHG, onde parte das amostras foram acondicionadas sob refrigeração a 10 °C, e outra foi submetida ao congelamento a -18 °C durante sete dias.

2.2. Extração dos pigmentos

2.2.1. Extração exaustiva de antocianinas monoméricas totais

Para a extração exaustiva das antocianinas, com solvente orgânico, a polpa da laranja triturada foi submetida à agitação utilizando uma solução extratora constituída por água, 20% acetona e 0,35% ácido fórmico e após realizada a filtração a vácuo, seguindo a metodologia descrita por Bochi et al. (2014).

2.2.2. Extração exaustiva de carotenoides totais

Os carotenoides totais e outros compostos fenólicos foram extraídos em ultrassom empregando o solvente orgânico acetona. Em seguida a amostra foi filtrada à vácuo. Após os carotenoides foram separados dos demais compostos fenólicos pela adição de éter de petróleo, onde esses puderam ser

separados em funil de separação devido a maior afinidade dos carotenoides por esse solvente (Rodriguez-Amaya, 2001).

2.2.3. Extração de antocianinas monoméricas totais e carotenoides totais por MHG

Para a extração utilizando o MHG, as cascas das laranjas foram retiradas e as frutas foram cortadas em quatro pedaços iguais, onde 300 gramas da amostra foram depositadas no recipiente do equipamento. A extração ocorreu a 600 Watts de potência, seguindo as orientações de Ravi et al. (2018), que descreve a extração utilizando a proporção de 2 Watts/ grama de amostra. A extração durou 10 minutos, tempo necessário até cair a última gota de extrato.

2.3. Quantificação de pigmentos por espectrofotometria

A metodologia utilizada para determinar antocianinas monoméricas totais (AMT) baseou-se no método do pH diferencial (Giusti e Wrolstad, 2001) e, o teor de carotenoides totais (CT) foi determinado pelo método de Rodriguez-Amaya (2001).

2.4. Análise de cor

A análise instrumental da cor dos extratos foi realizada em colorímetro Minolta CR-300, o qual apresenta abertura de 8 mm e ângulo do observador de 10°. A iluminação empregada foi a D65 e o modo foi o do componente especular excluído (SCE).

2.5. Análise estatística

A análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Duncan para avaliar a diferença entre as médias para antocianinas monoméricas totais e carotenoides totais com nível de significância de 5%. Para avaliar a diferença entre os parâmetros de cor o teste t foi aplicado ($\alpha=0,05$). A correlação de Pearson's foi empregada para verificar a possível relação entre a presença de pigmentos e a cor dos extratos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de AMT e CT estão expostos na Tabela 1. Em relação ao teor de AMT observa-se que os extratos obtidos pelos dois preparos de amostra não apresentaram diferença significativa. O teor de AMT removido das amostras foi de 12,03% para as laranjas refrigeradas e de 6,02% para as amostras congeladas. Segundo Cebadera-Miranda et al. (2019), as antocianinas responsáveis pela pigmentação avermelhada das laranjas sanguíneas são majoritariamente a cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-6-malonil-glicosídeo. Além de promover a cor da fruta, as antocianinas também podem causar benefícios à saúde devido a sua ação antioxidante, prevenindo doenças causadas por danos oxidativos (Santos e Meireles, 2011).

Para o conteúdo de CT foram encontradas maiores concentrações no extrato que utilizou a laranja refrigerada, onde conseguiu-se remover 29,37% dos CT presentes na fruta, enquanto para a laranja congelada o extrato apresentou 6,99%. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que os tecidos das frutas congeladas foram rompidos pelos cristais de gelo formados durante o congelamento, tornando os carotenoides suscetíveis à degradação por enzimas, onde os carotenoides transformam-se em epóxicarotenoides (Schioze e Barata, 2009). Assim como as antocianinas, os carotenoides também apresentam atividade antioxidante, pois são precursores de vitamina A, vitamina essa que apresenta funções importantes para a visão (Olsen, 1989).

Tabela 1. Antocianinas monoméricas totais, carotenoides totais dos extratos de laranja extraídos exaustivamente e por MHG com laranjas congeladas e refrigeradas.

	Extração exaustiva	Extração da fruta refrigerada	Extração da fruta congelada
Antocianinas monoméricas totais*	1,33 ±0,09 ^a	0,16±0,04 ^b	0,08±0,01 ^b
Carotenoides totais**	1,31±0,08 ^a	0,38±0,03 ^b	0,092±0,001 ^c

*mg de cianidina-3-glicosídeo/100 g de fruta *in natura*. ** mg de β -caroteno/100 g de fruta *in natura*. Valor médio $\pm$ desvio padrão (n = 3). As médias seguidas de pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes à cor dos extratos obtidos através do MHG. Os valores de L*, que se relacionam com o eixo da luminosidade, não diferiram estatisticamente entre as amostras e apresentaram valores elevados, ressaltando a tonalidade clara dos extratos. Os valores positivos de a* mostram que os extratos apresentam tendência ao vermelho, diferentemente do encontrado por Raimundo et al. (2007), onde os sucos de laranjas pasteurizado apresentaram valores negativos, tendendo ao verde. Isso se deve ao fato de as laranjas sanguíneas apresentarem antocianinas, pigmento responsável pela coloração avermelhada ($p = 0,95$). Entre as amostras encontrou-se maior intensidade da coloração vermelha no extrato obtido das laranjas refrigeradas, apesar de não ser encontrada diferença estatística no teor de AMT.

A tonalidade amarela dos extratos é explicada pelos valores b*, onde não foi encontrada diferença estatística entre as amostras. Esses valores podem ser explicados pelos teores de CT presentes nas laranjas que lhes conferem a tonalidade amarelada. Os extratos resultantes da extração com MHG apresentaram baixas concentrações de pigmentos em comparação com a fruta *in natura*. Porém deve-se considerar que os extratos não apresentam resíduos de solvente e que os pigmentos foram extraídos com a água contida na própria fruta, podendo ser aplicada em alimentos e fármacos sem a necessidade de um preparo prévio. Além disso, o processo também apresenta a vantagem de ser realizado em um curto período de tempo, pois foram necessários apenas 10 minutos para obter-se o extrato.

Tabela 2. Parâmetros de cor dos extratos de laranja congelada e refrigerada por MHG.

	Extrato da fruta refrigerada	Extrato da fruta congelada	p
L*	44±1	43,9±0,1	0,4
a*	0,38±0,04	0,22±0,02	0,003
b*	6,00 ±0,08	6,5±0,6	0,2

L*: luminosidade; a*: tendência ao vermelho; b*: tendência ao amarelo. Valor médio $\pm$ desvio padrão (n = 3).

4. CONCLUSÃO

O micro-ondas de hidrodifusão e gravidade possibilitou a remoção das antocianinas monoméricas totais e carotenoides totais de laranja sanguínea rapidamente com a água contida na própria fruta, sem a necessidade de adicionar nenhum tipo de solvente. O melhor preparo de amostra para a extração dos pigmentos das laranjas sanguíneas foi a amostra refrigerada, onde conseguiu-se maior conteúdo de carotenoides totais, além de apresentar coloração mais avermelhada, e por ter removido o dobro de antocianinas que a laranja congelada. O método desenvolvido mostra-se promissor por conseguir remover os pigmentos da laranja sem a adição de solvente, sendo um método rápido e sustentável.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES pela concessão de bolsa a primeira, segunda e terceira autoras.

5. REFERÊNCIAS

- BITTAR, S. A. L; PÉRINO-ISSARTIER, S.; DANGLES, O.; CHEMAT, F. An innovative grape juice enriched in polyphenols by microwave-assisted extraction. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 3268–3272, 2013.
- BOCHI, V. C.; BARCIA, M. T.; RODRIGUES, D.; SPERONI, C. S.; GIUSTI, M. M.; GODOY, H. T. Polyphenol extraction optimisation from Ceylon gooseberry (*Dovyalishebecarpa*) pulp. **Food Chemistry**, v. 164, p. 347–354, 2014.
- CEBADERA-MIRANDA, L.; DOMÍNGUEZ, L.; DIAS, M. I.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; IGUAL, M.; MARTÍNEZ-NAVARRA, N.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; MORALES, P.; CÁMARA.; M. Sanguinello and Tarocco (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck): Bioactive compounds and colour appearance of blood oranges. **Food Chemistry**, v. 270, n. 1, p. 395-402, 2019.
- GARCIA-SALAS, P.; MORALES-SOTO, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. **Molecules**, v. 15, p. 8813-8826, 2010.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current Protocols Food Analytical Chemistry**, p. 0-14, 2001.
- OLSEN, J.A. Provitamin A function of carotenoids: The conversion of β -carotene to vitamin A. **Journal of Nutrition**, v. 119, p. 105-108, 1989.
- RAIMUNDO, E.; KRUGER, R. L.; LUCIO, M.; CICHOSKI, A. J. Cor, viscosidade e bactérias lácticas em suco de laranja pasteurizado e submetido ao efeito da luz durante o armazenamento. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 4, p. 449-456, 2007.
- RAVI, H. K.; BREIL, C.; VIAN, M. A.; CHEMAT, F.; VENSKUTONIS, P. R. Biorefining of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) pomace using microwave hydrodiffusion and gravity, ultrasound-assisted, and bead-milling extraction. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 8, p. 4185-4193, 2018.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoids analyses in foods**. Washington, 2001.
- SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Optimization of bioactive compounds extraction from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins assisted by high pressure CO₂. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 12, n. 3, p. 398–406, 2011.

SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. Stability of natural pigments and dyes. **Revista Fitos**, v. 3, n. 2, p. 6-24, 2007.